



## Afdelingen for Landbrugsforsøg. Årsberetning 1986

Forskningscenter Risø, Roskilde

*Publication date:*  
1987

*Document Version*  
Publisher's PDF, also known as Version of record

[Link back to DTU Orbit](#)

*Citation (APA):*  
Forskningscenter Risø, R. (1987). *Afdelingen for Landbrugsforsøg. Årsberetning 1986*. Risø National Laboratory. Risø-M No. 2626

---

### General rights

Copyright and moral rights for the publications made accessible in the public portal are retained by the authors and/or other copyright owners and it is a condition of accessing publications that users recognise and abide by the legal requirements associated with these rights.

- Users may download and print one copy of any publication from the public portal for the purpose of private study or research.
- You may not further distribute the material or use it for any profit-making activity or commercial gain
- You may freely distribute the URL identifying the publication in the public portal

If you believe that this document breaches copyright please contact us providing details, and we will remove access to the work immediately and investigate your claim.

# Afdelingen for landbrugsforsøg Årsberetning 1986

Forskningscenter Risø, 4000 Roskilde, Danmark  
Januar 1987

AFDELINGEN FOR LANDBRUGSFORSØG

ÅRSBERETNING 1986

Abstract. Årsberetningen indledes med en generel omtale af afdelingens forskningsarbejde. Årets aktiviteter er beskrevet i 5 korte projektberetninger og i publikations- og foredragslister. Årsberetningen indeholder desuden 4 oversigtsartikler om udvalgte emner fra afdelingens arbejde, samt en oversigt over personale og studerende.

Januar 1987

Forskningscenter Risø, 4000 Roskilde, Denmark

## INDHOLDSFORTEGNELSE

	Side
1. Indledning .....	5
2. Projektberetninger .....	6
2.1. Genetik og molekylærbiologi .....	6
2.2. Celle- og vævskultur .....	10
2.3. Sygdomsresistens i planter .....	13
2.4. Symbiotisk kvælstofbinding .....	16
2.5. Planteernæring og miljø .....	18
3. Andre aktiviteter .....	20
4. Publikationer, foredrag og posters .....	21
5. Seminarer .....	28
6. Personale, stipendiater og studerende .....	29
7. Udvalgte emner .....	31
7.1. Biokemiske metoder til sortsidentifikation ....	31
7.2. Karakterisering af symbiotiske mutanter af <i>Rhizobium leguminosarum</i> induceret af transposomet Tn5 .....	36
7.3. Bygstribesygge .....	44
7.4. Organomineraler .....	49

## 1. INDLEDNING

Planteavlsforskningen på Risøs landbrugsafdeling omfatter grundlæggende genetiske, biokemiske, fysiologiske og mikrobiologiske undersøgelser og anvendelsesorienterede projekter, hvis overordnede mål er at forbedre grundlaget for forædlingen og dyrkningen af landbrugsplanter.

Afdelingen deltager i udviklingen og vurderingen af nye bioteknologiske teknikker til forbedring af planteproduktionen. Arbejdet er især koncentreret om emnerne proteinkvalitet, sygdomsresistens og symbiotisk kvælstofbinding hos bælgsplanter samt in vitro kultur af planteceller. Det er emner, som afdelingen har beskæftiget sig med i en årrække, og på denne baggrund har vi forudsætninger for at vurdere, på hvilke områder de nye molekylærbiologiske metoder kan udnyttes og supplere traditionelle forædlings- og dyrkningsmæssige metoder.

Regeringens handlingsplan for forskning og udvikling fra maj 1986 opfordrer til etablering af bioteknologiske forskningscentre bestående af et antal institutter, der indgår aftale om forpligtende samarbejde om gennemførelse af et forskningsprogram. Landbrugsafdelingen har i samarbejde med fire institutter på Den kgl. Veterinær- og Landbohøjskole, en Plantefysiologisk gruppe på Aarhus Universitet og Bioteknologigruppen under Statens Planteavlsforsøg udarbejdet et forslag til etablering af et bioteknologisk forskningscenter inden for området: "Anvendelse af molekylærbiologiske metoder til forbedring af planteproduktionen". Hvis forslaget realiseres, vil det medføre en styrkelse af afdelingens nuværende indsats på området og intensivere samarbejdet med de nævnte institutioner. Det vil endvidere gøre det muligt at fortsætte de igangværende forskningsprojekter, som finansieres af tidsbegrænsede bevillinger via de særlige forskningsprogrammer for bioteknologi og fra Statens Jordbrugs- og Veterinærvidenskabelige Forskningsråd (SJVF).

Undersøgelser af partiel resistens mod meldug i byg har været delvis finansieret af Nordisk Ministerråd, og EF's landbrugsdirektorat har støttet et projekt vedrørende proteinkvalitet i byg. Med økonomisk støtte fra Energiministeriets forskningsprogram, EFP-84, er der gennemført undersøgelser over energiforbruget i den symbiotiske kvælstofbinding hos ært, og vekselvirkningen mellem mykorrhiza, knoldbakterier og værtplanter er belyst i et projekt, der er delvis finansieret af SJVF. Med støtte fra EFP-85 er der gennemført undersøgelser over afsvovlingsprodukters omsætning i jord og optagelse i planter.

En erhvervsforsker fra Forædlingsstationen "Maribo", De danske Sukkerfabrikker, har afsluttet sin uddannelse vedrørende haploider i sukkerroer. Med støtte fra Risøs licentiatkonto har 2 licentiatstuderende på afdelingen gennemført deres forskningsprojekter vedrørende emnerne: "Symbiotisk kvælstofbinding" og "Celle-vævskultur". Desuden har en medarbejder erhvervet den jordbrugsvidenskabelige doktorgrad på grundlag af en afhandling om båndfarvning af kromosomer.

## 2. PROJEKTBERETNINGER

Afdelingens arbejde i 1986 er beskrevet i følgende fem projektberetninger, der i korte træk giver en orientering om resultaterne af årets forskning.

### 2.1. Genetik og molekylærbiologi

Kromosomernes opbygning og genernes beliggenhed på kromosomerne undersøges, da kendskab hertil er en vigtig forudsætning for en rationel udnyttelse af den arvelige variation i planteforædlingen. Undersøgelserne omfatter identifikation af byggenes kromosomer, genernes beliggenhed og studier af arvelig variation.

Molekylærbiologiske metoder anvendes til kloning af generne for nogle udvalgte bygendosperm-proteiner og til studier af protein syntesens regulering med henblik på en eventuel anvendelse i bygforædlingen. Endvidere søges meldugsvampens genom kortlagt ved hjælp af restriktions-fragment-længde-polymorfi (RFLP) og mutanter af *R. leguminosarum* identificeres og karakteriseres.

#### 2.1.1. Kromosomstudier

Efter anvendelse af såkaldte båndfarvningsmetoder fremkommer der stærkt farvede tværbånd på kromosomerne hos mange arter. De kan tilsammen danne arts- og kromosomspecifikke båndmønstre. På grundlag af mønstrene er det muligt at identificere hvert af de syv bygkromosomer og skelne dem fra andre arters kromosomer i artshybrider. Båndfarvning er anvendt til at udarbejde kromosomkort hos vilde bygarter fortrinsvis fra Europa og til at bestemme kromosomvariationen i et antal hybrider mellem henholdsvis diploid og tetraploid byg og vildbyg. Kromosombesætningen hos hybrider med tetraploid byg var forholdsvis mere stabil end hos hybrider med diploid byg.

Translokationslinier, dvs. linier med kromosomlejringer, udnyttes i dyrket byg til fremstilling af planter med duplikerede kromosomsegmenter og til gen-lokalisering. En samlet analyse af brudpunkternes beliggenhed i kromosomerne i 70 linier viste, at brudpunkterne på grundlag af båndmønstre kunne fastlægges nøjagtigt eller ret nøjagtigt i halvdelen af materialet.

Nedarvningsforholdene i 59 beslægtede, nordvesteuropæiske bygsorter, der tidligere er undersøgt for variation i båndmønstre, er yderligere undersøgt for variation i 37 enzymloci. Sytten af dem rummede flere alleler. Med tiden har der fundet en vis generosion sted, der dog er modvirket ved indkrydsning af gener fra eksotisk materiale. Variationen er mindre i nye end i gamle sorter.

#### 2.1.2. Koblingsundersøgelser

Der er lavet et koblingskort, der viser genernes placering på bygens kromosom 4. I beregningen af koblingskortet er der ta-

get hensyn til alle i litteraturen tilgængelige koblingsdata og til den præcision, hvormed disse er bestemt. På kortet, der er 127 centimorgan langt, er der placeret 25 loci. Resultatet af beregningerne sandsynliggør imidlertid, at to af disse loci er identiske. Endvidere er det vist, at et meldugresistensgen ikke som tidligere antaget ligger i locus *M1-g*, men i stedet udgør et selvstændigt locus på kromosom 4.

#### 2.1.3. Sortsidentifikation

Det undersøges, om RFLP er velegnet som metode til identifikation af bygsorter (se artiklen side 31). Der er udvalgt nogle DNA-kloner og nogle restriktionsenzymmer til brug ved udvikling af metoden, som snart er færdig. Der kan ekstraheres tilstrækkeligt kromosomalt DNA fra et enkelt blad til to analyser med mærkede DNA-kloner. Da  $^{32}\text{P}$  i de mærkede DNA kloner forholdsvis hurtigt henfalder (halveringstid 14 dage), forsøges biotinmærkning anvendt, fordi denne er stabil i adskillige måneder og derfor bedre egnet til rutineundersøgelser. Metoden med biotin giver imidlertid ekstra bånd i RFLP-mønstret sammenlignet med  $^{32}\text{P}$ -metoden. Det skyldes formentlig, at der til kromosomalt byg DNA er bundet proteiner, som også bliver detekteret ved metoden. Proteinerne søges fjernet med enzymer.

#### 2.1.4. Regulering af lagerproteinsyntesen i bygkerner

Proteinsyntesen i endospermen under kernefyldningen kan groft inddeles i tre faser: en tidlig syntese af metaboliske proteiner, en mellemfase med kraftig syntese af lagerproteiner og en sen fase, der er karakteriseret ved syntese af basiske proteiner. DNA syntesen på disse udviklingsstadier i bygkernen er studeret i forhold til proteinsyntesen. Indtil 10 dage efter blomstring foregår DNA syntesen i cellekerner i et meristematisk væv, der omgiver den centrale endosperm. Cellekernerne i endospermen er tilsyneladende alle i interfase. På dette stadie syntetiseres der hovedsageligt metaboliske proteiner. I perioden 10 til 15 dage efter blomstring formes aleuronlaget fra de meristematiske celler. I det følgende stadie mellem 15 og 25 dage efter blomstring syntetiseres der DNA i både endosperm- og



aleuroncellekerner. Da der forekommer kromosomer i endospermkernerne i et antal, der svarer til det triploide niveau, er det sandsynligt, at der sker en polytenisering (dannelse af mange-trådede kromosomer) af kromosomerne i den centrale endosperm. DNA-mængden femdobles i perioden fra 10 til 25 dage, hvilket er sammenfaldende med den største lagerproteinsyntese. Stigende tilførsel af kvælstof (0,5-2 g/l medie) i akkultur resulterer i en fordobling af DNA mængden i 15 dage gamle endospermer. Disse resultater tyder på, at stigningen i lagerproteinsyntesen under kerneudviklingen og ved høj kvælstoftilførsel tildels kan forklares ved en stigning i DNA-mængden. Mere DNA vil give basis for mere proteinsyntese. 25 dage efter blomstring forekommer der stadig DNA-syntese i aleuron- og endospermkerner. Gener, der er aktive, har en forøget DNase-I følsomhed. Derfor er det muligt at undersøge, om lagerproteingenerne er aktive under hele endospermudviklingen eller kun i den midterste fase. Foreløbige resultater tyder på, at disse gener er aktive i alle de undersøgte stadier.

#### 2.1.5. cDNA kloner for basiske bygproteiner

I den sidste del af kernefyldningen syntetiseres nogle lysinrige basiske proteiner. Mængden af dem kan reguleres med kvælstof, således at stigende kvælstoftilførsel forøger mængden af de basiske proteiner i bygkernen. Disse proteiner kan derfor være vigtige for forøgelsen af det totale lysinindhold i kernen. Det vides, at et af disse er en proteinsynteseinhibitor, og et andet er enzymet chitinase, som i andre planter formodes at være en del af plantens forsvar mod mikrobielle angreb. De basiske proteiner bliver ikke nedbrudt under de første 8 dages spiring og kan derfor have en beskyttende funktion.

Et bibliotek af cDNA kloner er etableret i Lambda gt11 bakteriofagen. Denne bakteriofag kan oversætte cDNA nukleotidsekvensen til protein, som kan påvises med antistoffer. Herved kan kloner for et bestemt protein direkte identificeres med antistoffer mod dette protein. Biblioteket består af 50.000 kloner. En del af disse er analyseret med antistoffer mod fem af de ba-

siske proteiner. Der er herved fundet 15 potentielle kloner. Disse bliver nu yderligere oprenset til endelig identifikation.

#### 2.1.6. Kløning af meldug DNA

Meldugsvampens genom søges kortlagt ved hjælp af RFLP. Metoder til opsamling af store mængder sporer og ekstraktion af DNA fra samme er indkøbt. Meldug DNA er klonet i en plasmidvektor, og udvælgelse af egnede kloner er i gang.

#### 2.1.7. Karakterisering af symbiotiske mutanter af *Rhizobium leguminosarum* induceret af transposomet Tn5

Formålet er at identificere og karakterisere kromosomalt lokaliserede gener hos *R. leguminosarum*, som er involveret i den symbiotiske kvælstofbinding i ærterodknolde. Blandt 2000 Tn5-inducerede mutanter af *R. leguminosarum* 'Risø 1a' blev der isoleret 6, der kan danne rodknolde på ært, men ikke fikse kvælstof (N). Hos 5 af disse mutanter er Tn5 lokaliseret på kromosomet, og hos én er transposomet lokaliseret på bakteriens sym-plasmid.

I øjeblikket er det Tn5-holdige restriktionsfragment fra en af de kromosomale mutanter ved at blive klonet i en plasmidvektor. Hensigten er at bruge denne klon til at identificere det tilsvarende vildtype DNA fra et genbibliotek af moderstammen. Iøvrigt henvises til artiklen side 36.

### 2.2. Celle- og vævskultur

Arbejdet med celle- og vævskultur sigter mod udvikling af teknikker, der kan anvendes direkte i planteforædlingen. Desuden foretages grundlæggende undersøgelser af celledifferentiering i cellekulturer, idet en vigtig forudsætning for anvendelse af genteknologiske indgreb (gensplejsning) i forædling er, at planter kan regenereres fra DNA-manipulerede celler.

#### 2.2.1. Haploider i sukkerroer

Arbejdet med induktion af haploider i sukkerroer ved hjælp af

artsfremmed og bestrålet pollen er nu afsluttet. Forsøgene har vist, at det er muligt at frembringe haploider ved in vitro dyrkning af umodne frøanlæg fra blomster bestøvet med bestrålet pollen. Frekvensen af haploider fra disse forsøg har dog været så lav, at det skønnes, at metoden ikke egner sig til en egentlig produktion i forbindelse med planteforædling.

Ved at udtage frøanlæg på et tidligt tidspunkt er det lykkedes at producere mere end 300 hybrider mellem sukkerroer og de fjerntstående arter *Beta procumbens* og *B. patellaris*, der normalt ikke kan krydses med sukkerroer. Disse arter har så vigtige egenskaber som resistens mod bladplet og nematoder, og de fremstillede hybrider vil blive afprøvet for disse egenskaber.

Nye teknikker til selektion i pollenpopulationer og in vitro befrugtning er under udvikling.

#### 2.2.2. Overførsel af egenskaber fra vild til dyrket byg

Hybrider mellem dyrket byg og vilde bygarter kan fremstilles, men udveksling af egenskaber, rekombination, mellem de to kromosomsæt i hybriderne er ikke fundet. Det har derfor indtil nu ikke været muligt at udnytte egenskaber fra vilde bygarter i forædlingen af dyrket byg.

Rekombination mellem forskellige kromosomsæt hos hybrider kan imidlertid forekomme i kalluskulturer af hybridvæv. Derfor er der foretaget en cytologisk undersøgelse af 110 planter, som er regenereret fra kallus af 16 forskellige kombinationer mellem dyrket byg og vilde bygarter. Omfattende forandringer af karyotypen er fundet i ca. halvdelen af planterne. C-båndfarvning af kromosomerne hos 18 regenererede planter er foretaget. Derved er det vist, at kromosombrud med efterfølgende rekombination finder sted inden for den dyrkede bygs kromosomsæt. Nye C-bånd er også konstateret på den dyrkede bygs kromosomer, men det har ikke været muligt at konstatere, om disse ekstra bånd skyldes overførsel af genetisk materiale fra de vilde arter, eller om båndene er et resultat af andre kromosomforandringer i kalluskulturerne.

I forbindelse med produktionen af hybrider er der fremstillet et haploider af tre linier af dyrket byg. Alle haploiderne har cytoplasma fra den vilde art *Hordeum marinum*.

### 2.2.3. Regeneration og differentiering

Effektiv regeneration af planter fra protoplaster og enkeltceller er nødvendig for udnyttelsen af teknikkerne til gen-manipulering som fx somatisk hybridisering og direkte DNA-indførsel. På Risø søger vi i samarbejde med andre at løse de specielle vanskeligheder, der optræder i forbindelse med in vitro regeneration af græsserne.

Differentiering og regeneration i haploid pollen-, kallus- og suspensionskulturer er undersøgt. Problemet med levedygtigheden af celler er analyseret ved hjælp af fluorescense-farvemetoder sammenlignet med aktuelle parametre for cellernes overlevelse (celledeling og -vækst).

Ved anvendelse af mikrometoder (ultratyndtlags-polyacrylamidgel isoelektrisk focusering) til sammenligning mellem suspensionskulturer, som voksede under ikke-embryogene og embryodannende dyrkningsforhold, blev forskelle i peroxidase isoenzym båndmønstre observeret. Under de opstillede forsøgsforhold er det ikke muligt entydigt at relatere disse forskelle til embryodannelse.

I forbindelse med dette biokemiske arbejde blev en enzym-histokemisk undersøgelse foretaget for at vurdere lokaliseringen af peroxidaseaktivitet. Ved vurderingen blev celletæthed og auxinkoncentration, der er vigtige for skift til embryodannelse, ligeledes undersøgt. Resultaterne viste blandt andet en ekstracellulær reaktion i suspensor-regionen, der er knyttet til den somatiske embryoudvikling fra globulært til tidligt torpedo-stadie. Disse observationer danner sammen med strukturelle observationer basis for en hypotese om mekanismer, der styrer embryodannelsen under suspensionskultur vækstformen.

Til identificering og karakterisering af celler med embryogene egenskaber er immunologiske teknikker blevet inddraget. Med udgangspunkt i plasmamembranen fra embryoceller søges dannet monoklonale antistoffer, der genkender specifikke epitoper dels på denne celletype, dels på mulige embryogene celler i suspensionskulturer. Plasmamembranfraktionen er blevet oprenset til brug for immunisering af mus, hvis B-lymfocytter er klonet i kulturer. Antistoffer produceret af de positive kloner bliver derefter testet på protoplaster af forskellig oprindelse samt undersøgt på ultratyndsnit i transmissionselektronmikroskopet. Det muliggør den endelige udvælgelse af egnede antistoffer og en cytologisk lokalisering af de immunogene epitoper. En egnet teknik til elektroforese af plasmamembran-proteiner er urder opstilling, hvorefter en anden metode, kaldet Western-blotting, yderligere vil hjælpe til ved identifikationen af de embryospecifikke proteiner.

### 2.3. Sygdomsresistens i planter

En effektiv resistens mod sygdomme i planter er med til at sikre høje og stabile udbytter og samtidig reducere behovet for anvendelse af kemiske bekæmpelsesmidler. Det er derfor nødvendigt, at planteforædlerne løbende forsynes med metoder til udvælgelse for resistens og med resistent plantemateriale. Bedst muligt kendskab til sygdomsresistensens arvelige og fysiologiske baggrund er vigtigt for en rationel udnyttelse i planteforædlingen og for fastlæggelse af en optimal strategi for anvendelsen af resistente sorter i plantedyrkningen. Derudover anses det for værdifuldt at udvikle nye metoder, der kan supplere eller erstatte kendte bekæmpelsesmetoder.

#### 2.3.1. Partiel resistens mod bygmeldug

Vårbygssorter på den danske sortsliste viste store forskelle i partiel meldugresistens målt på infektionsfrekvens, latensperiode og sporeproduktion på sorterne. Vinterbygssorter afprøvet på samme måde viste, at vernalisering af sorterne ikke er nødvendig forud for måling af sorterens partielle resistens. En diallel krydsning mellem seks vårbygssorter, der blev analyseret

i  $F_1$ - og  $F_2$  generationerne, tyder på, at de to komponenter, infektionsfrekvens og sporeproduktion, i partiel resistens er polygent betinget og med en høj grad af additiv virkning af generne.

### 2.3.2. Meldugresistensgener i nyere vårbygsorter

De 67 vårbygsorter, der er optaget på den danske sortsliste i årene 1979-1986, er analyseret med 21 udvalgte meldugisolater med henblik på at bestemme, hvilke meldugresistensgener de enkelte sorter indeholder. Alle sorterne har mindst ét resistensgen, mange har to, nogle tre og én sort har fire. Siden 1978 er tre nye resistensskilder blevet repræsenteret i sortsmaterialet, nemlig *M1-0*, Ricardo- og Tyrkisk resistens. Resultaterne tyder dog stærkt på, at resistensgenet, *M1-a3*, fra 'Ricardo', også findes i Tyrkisk resistens.

### 2.3.3. Virulensgener i meldugsvampen

Undersøgelser af bygsorters gener for resistens mod meldug kræver meldugisolater med specifikke virulensegenskaber. Derfor er vor isolat-samling i forbindelse med undersøgelsen for resistensgener i år udvidet med nye virulensgener og genkombinationer ved specifikt udvalg i den naturlige svampepopulation. Kombinationen af *Laevigatum*-virulens med nogle af de andre virulensgener, fx Monte Cristo, forekommer i vore observationer sjældnere end ventet.

I undersøgelser af meldugsvampens virulensgener er det væsentligt at have neutrale markørgener som holdepunkter. Isoenzymgener er her en mulighed, hvorfor der er etableret et samarbejde med Barbara Giles og Lisa Munk, der på Landbohøjskolen arbejder med et forskningsrådsprojekt vedrørende genetisk variation i isoenzymer i bygmeldug. På Risø er der lavet krydsninger mellem meldugisolater, der adskiller sig i isoenzymer, og afkommet er afprøvet for spaltning i virulensgener. Afkommet spaltede som forventet på 10 differentialsorter med forskellige resistensgener.

#### 2.3.4. Mutanter i vært-patogen systemet byg-meldug

I afkom af en byglinie med meldugresistensgenet *M1-a12* er der induceret 25 mutanter med øget modtagelighed for meldug. Resultaterne viser: 1) at mutationshyppigheden fra resistens til modtagelighed er høj, 2) at alle grader af intermediær resistens er repræsenteret i mutanterne, 3) at mutantgenernes race-specificitet er identisk med specificiteten af *M1-a12*, og 4) at nogle mutanter er muteret i *M1-a12* genet og andre i et uafhængigt nedarvet suppressorgen.

#### 2.3.5. Nye meldugresistenskilder

Med henblik på at finde nye meldugresistensgener til forædlingsformål er der i 1986 i markforsøg afprøvet ca. 500 byglinier fra Ethiopia. Der var ca. 20 enkeltplanter uden meldug og nogle med meget lidt meldugangreb.

#### 2.3.6. Resistens mod bygbladplet

To års afprøvning af vårbygsorter viser meget stor variation i bladpletresistens, især i nyere sortsmateriale. Analyser af krydsningsafkom og af en del af sorterens stamtavler tyder på, at resistensen ikke er betinget af enkelte, identificerbare resistensgener. Sortsmaterialet indeholder resistens fra mindst tre forskellige kilder.

#### 2.3.7. Resistens mod bygstribesyg

Omkring 1030 bygsorter og -linier, hvoraf ca. 900 (650 sorter og 250 prøver "botanisk byg") stammer fra Nordvesteuropa og de øvrige fra Rusland og de andre dele af verden, er undersøgt for resistens over for stribesyg (se artiklen side 44). I det nordvesteuropæiske materiale fandtes kun to højresistente kilder med kendt arvelig baggrund. Det er Vada-resistensen, som er betinget af ét gen og har en vis udbredelse, og Freja-resistensen, som er betinget af to gener og kun kendes i et par tilfælde. Derudover fandtes der forholdsvis få højresistente sorter i det nordvesteuropæiske materiale, hvorimod der var for-

holdsviis flere i materialet fra fjernere egne. Der fandtes mange delvis resistente sorter (5-10% angreb). Opstilling af stamtavler viste, at både resistens og modtagelighed kan virke additivt, så krydsning af resistente sorter kan føre til øget resistens og af modtagelige til øget modtagelighed, men også at krydsning af resistent og modtagelig kan føre til sorter med et intermediært angrebsniveau.

Undersøgelser over fysiologisk specialisering har klart vist, at der forekommer såvel racespecifik som partiel resistens over for stribesygen.

#### 2.3.8. Biologisk bekæmpelse af meldug

For ca. tre år siden blev der fundet en svamp, der generede forsegene med meldug. Undersøgelser har vist, at denne svamp hæmmer væksten af meldug i så høj grad, at det er sandsynligt, at den vil kunne anvendes til bekæmpelse af meldug. Dette har ført til, at der iværksættes et projekt til nærmere belysning heraf.

#### 2.4. Symbiotisk kvælstofbinding

I 1980 påbegyndte vi med støtte fra Energiministeriets forskningsprogrammer et projekt vedrørende symbiotisk kvælstofbinding (N-binding) for at få et bedre kendskab til genetiske, fysiologiske og dyrkningsmæssige egenskaber hos bælplanter, især ært og hestebønne. Projektets formål er at belyse mulighederne for at forbedre bælplanternes udbytte og dyrkningssikkerhed for dermed at skabe mulighed for i højere grad at inddrage symbiotisk N-binding i landbrugets planteproduktion.

##### 2.4.1. Ærtemutanter

Tres mutanter af 'Finale' ært, deraf 36 som ikke kan danne knolde, og 24 som danner ineffektive knolde, er under opformering. Foreløbige undersøgelser har vist, at adskillige gener er involveret. Fem mutanter er klassificeret som recessive. Nogle ikke-knolddannende mutanter laver normale infektionstråde i rodhåre-



ne, mens andre mutanter ikke danner infektionstråde. Mutanterne vil efter opformering blive anvendt i en analyse af det genetiske grundlag for symbiosen.

#### 2.4.2. Overlevelse af rodknoldbakterier i jorden

Danske jorde indeholder normalt fra  $10^3$  til  $10^4$  ærterodknoldbakterier (*Rhizobium leguminosarum*) pr. gram jord. Hvis disse bakterier ikke er effektive med hensyn til at binde kvælstof, kan der måske være behov for at tilføre effektive bakterier ved podning. Knoldbakterier tilført jorden ved podning må være i stand til at overleve minimum en vækstsæson og konkurrere med de naturligt forekommende populationer, hvis podningen skal have positiv effekt. Ved anvendelse af streptomycinresistente *R. leguminosarum* er overlevelsen under markforsøg belyst over en periode på 3 eller 4 år. Ved forsøgenes start indeholdt jorde podet med tre forskellige stammer henholdsvis  $2,6 \times 10^5$ ,  $3,4 \times 10^5$  og  $33,1 \times 10^5$  streptomycinresistente bakterier pr. gram jord. Efter henholdsvis 4, 3 og 3 år var populationerne af de streptomycinresistente bakterier reduceret til henholdsvis  $2,2 \times 10^4$ ,  $8,3 \times 10^4$  og  $2,5 \times 10^4$  pr. gram i jord uden plantevækst. Plantevækst, især af værtplanten ært og ikke-værtbælglplanten lupin, forårsagede, at flere bakterier overlevede i forhold til brakjord, men også dyrkning af ikke-bælglplanter forårsagede, at flere bakterier overlevede. Det er formentlig lettilgængeligt, organisk stof (rodexudater m.v.) fra planterødderne, der forårsager den bedre overlevelse. Forsøg med ærteplanter viste, at de streptomycinresistente bakterier forekom i en mindre procentdel af rodknoldene, efter at bakterierne havde været 3 år i jorden.

#### 2.4.3. Kvælstofbindingens forbrug af fotosynteseprodukter

Symbiotisk N-binding omsætter store mængder af det kulstof (C), som værtplanten assimilerer ved fotosyntese. N-bindingen varierer mellem forskellige symbiosekombinationer og påvirkes af både værtplante- og *Rhizobium*-genotype. Rodsystemets C-omsætning er belyst i kombinationer af 'Bodil' ært og udvalgte *Rhizobium*-stammer. Der er påvist en positiv sammenhæng mellem symbio-

sernes N-binding og rodknoldenes kapacitet til at genoptage respireret kuldioxid ( $\text{CO}_2$ ) ved fosfoenolpyruvatcarboxylase (PEPC) aktivitet. PEPC er et planteenzym, hvis aktivitet således påvirkes af *Rhizobium* genotypen. Produktet af PEPC-aktiviteten bruges i ært bl. a. som C-skelet til eksport af det bundne N fra rodknoldene til plantens top. Det er påvist, at der er en sammenhæng mellem mængden af de forskellige eksportstoffer og rodknoldenes PEPC-aktivitet. Opdeling af den respiratoriske  $\text{CO}_2$ -udskillelse i den del, der hidrører fra N-binding og i baggrundsrespiration, viser, at disse størrelser ikke kan korreleres direkte til symbiosens N-binding.

#### 2.4.4. VA-mykorrhiza

Størstedelen af rødderne hos ært bliver normalt omdannet til VA-mykorrhiza (VAM) under markforhold. Derved øges afgrødens fosforoptagelse, og dette har igen betydning for den symbiotiske N-binding. Undersøgelser har vist, at udover denne fosforeffekt kan VAM påvirke værtplantens fysiologi på en række måder. Dette gælder bl.a. mønstret for assimilation af fikseret N, idet sammensætningen af N-eksporterende stoffer fra rod til top er forskellig hos ærteplanter med og uden VAM. Målinger i et gasflow-system tyder endvidere på, at VAM påvirker den del af rodsystemets kuldioxidudskillelse, der er direkte forbundet med N-binding.

### 2.5. Planteernæring og miljø

Moderne plantedyrkning er forbundet med en række problemer vedrørende energi, ressourcer og miljø. Afdelingens arbejde på dette område har omfattet omsætning og eftervirkning af kvælstof i afgrøderester, planternes fosforforsyning og VA-mykorrhiza samt indflydelsen af affaldsprodukter fra kulkraftværker på planternes vækst og kemiske sammensætning.

#### 2.5.1. Fosfor

VA-mykorrhiza har stor betydning for fosforoptagelse og vækst hos porre. I potteforsøg blev der således opnået maksimal vækst

hos VAM-planter dyrket i jord med moderat fosformangel. Opnåelse af samme udbytte hos uinficerede porrer krævede en ekstra fosfortilførsel på 70-80 mg pr. kg jord. Etablering af VAM før udplantning i usteril jord med tre fosforniveauer havde en positiv men forbigående effekt på væksten af porre. Planter uden VAM blev således hurtigt inficerede, og efter 70 dage var udbyttet hos upodede planter dyrket ved moderat fosformangel af samme størrelse som udbyttet hos podede eller fosforgødede planter.

#### 2.5.2. Eftervirkning af ærter dyrket til modenhed

Forfrugtsværdien af ært i dyrkningssystemer skyldes dels en snerende effekt over for sædskiftesygdomme, fx fodsyge i kornrige dyrkningssystemer, og dels en eftervirkning fra kvælstof i de efterladte planterester. Rester efter bælGPLanteafgrøder (rødder, halm) indeholder almindeligvis betydeligt mere kvælstof end tilsvarende rester efter kornarter. Desuden indeholder jorden normalt mere nitrat efter høst af ært end efter korn. Der er derfor risiko for nitratudvaskning efter ært, hvis ikke det plantetilgængelige kvælstof udnyttes af en efterårssået afgrøde.

Et flerårigt markforsøg med vinter- og vårformer af raps, byg og hvede har vist, at hovedparten af det uorganiske N, som en bælGPLanteafgrøde efterlader, kan optages af en efterårssået afgrøde. Kvælstof i halmen har formentlig først på længere sigt (>2 år) betydning for N-forsyningen af følgende afgrøder.

#### 2.5.3. Afsvovlingsprodukter

Den planlagte rensning af kraftværkers røggas vil medføre en årlig produktion af 2-400.000 t svovlholdigt affald, de såkaldte afsvovlingsprodukter. Produkterne indeholder forskellige mineraler, bl.a. tungmetaller, samt det for planter giftige sulfit ( $\text{SO}_3^{--}$ ). Ved deponering af affaldet kan der være risiko for, at landbrugsarealer bliver forurenede med dette affald.

Undersøgelserne har vist, at afsvovlingsmetoden er af stor betydning for, hvorledes affaldet påvirker planternes mineralstofsammensætning. Således giver afsvovlingsprodukter uden flyve-

askeindhold en væsentlig øget optagelse af Cu, Mn, Zn, Cr og især Se og Cd. Indeholder affaldet flyveaske (denne blanding kaldes stabilisat), mindskes mineralstofoptagelsen med øget flyveaskeindhold, men især Se og Cd vil stadig optages i væsentlig større mængder end i kontrolplanter.

Undersøgelser af sulfittens giftighed over for majs i vandkultur viste, at skadevirkningen var pH-afhængig med større skade ved pH 5 end ved pH 7. Skadevirkning blev observeret ved så lave mængder som 0,4 g sulfit pr. liter næringsopløsning.

I markforsøg med nedfræsning af et afsvovlingsprodukt var sulfitten åbenbart ikke direkte plantetilgængelig. Selv ved mængder på 5 tons afsvovlingsprodukt pr. ha blev der ikke observeret nogen skadevirkning på ært og havre. I karforsøg, hvor sulfitten blev udsprøjtet direkte på italiensk rajgræs som ammoniumsulfitopløsning (afsvovling med ammoniakmetoden), var der imidlertid en betydelig udbyttenedgang i forhold til udsprøjtning af ammoniumsulfat.

### 3. ANDRE AKTIVITETER

Afdelingens medarbejdere har deltaget i møder i EF-, IAEA- og nordisk regie til koordinering af forskellige forskningsområder og deltaget i og bidraget med indlæg ved en række møder i ind- og udland.

Medarbejdere på afdelingen har deltaget i arbejdet i blandt andet arbejdsgrupper under Nordiske Jordbrugsforskere Forening, Samnordisk Planteforædling, Arbejdsplanudvalg ved Statens Plan-teavlsforsøg, Landbrugsministeriets planteforædlingsudvalg, Statens Jordbrugs- og Veterinærvidenskabelige Forskningsråd og udvalg nedsat af dette råd, Miljøværnscentret ved KVL, Dansk Genbanknævn og Mineralstofudvalget under Akademiet for de tekniske Videnskaber, ligesom flere medarbejdere har fungeret som censorer, medlemmer af bedømmelsesudvalg og referees.

Plantemateriale fra afdelingens forsøg af interesse for planteforædlingsformål stilles til rådighed for danske planteforædlere via "Planteforædlings-nyt". Desuden er der efter anmodning fra forskellige danske og udenlandske institutioner og planteforædlere fremsendt materiale af forskellige bygmutanter m.v. Yderligere er der udført fysisk og kemisk mutagen behandling af plantemateriale for planteforædlingsvirksomheder.

Til brug i biologiundervisningen i HF, gymnasier og seminarier er der i 1986 udleveret 2690 sæt plantemateriale fordelt på 366 forsendelser. Materialet viser artsforskelle i strålingsfølsomhed, forskellige mutanttyper i byg med klorofyldefekter og en- og to-gen Mendel-spaltninger.

Landbrugsafdelingen overtog pr. 1. juli 1986 ansvaret for driften af Dyskærgaard og de til Risø hørende landbrugsarealer. Landbrugsbedriften omfatter ca. 125 ha agerjord og ca. 30 ha engarealer samt bygninger, maskiner og kødkvægbesætning bestående af ca. 60 stk. Hereford-kvæg.

#### 4. PUBLIKATIONER, FOREDRAG OG POSTERS

##### GENETIK OG MOLEKYLÆRBIOLOGI

###### Publikationer:

- Bothmer, R. von, J. Flink and I. Linde-Laursen, 1986: Development and meiosis of three interspecific hybrids with cultivated barley (*Hordeum vulgare* L.). - Z. Pflanzenzücht. 96: 107-114.
- Bothmer, R. von, Jacobsen, N. and Jørgensen, R.B., 1986: Taxonomy, variation and relationships in the *Hordeum parodii* group. - Nord. J. Bot. 6: 399-410.
- Bothmer, R. von, R.B. Jørgensen and I. Linde-Laursen, 1986: Natural variation, phylogeny and genetic resources in *Hordeum*. - In: "Barley Genetics V", Proc. 5th International Barley Genetics Symposium, Okayama, Japan (under trykning).
- Jørgensen, Rikke Bagger, 1986: Relationships in the barley genus (*Hordeum*): An electrophoretic examination of proteins. - Hereditas 104: 273-291.

- Jørgensen, R.B. and B. Andersen, 1986: Transfer of genetic material to cultivated barley from alien species through callus culture (preliminary results). - In: Proc. EUCARPIA Symp. "Genetic Manipulation in Plant Breeding", Berlin: 611-613.
- Lange, W., I. Linde-Laursen, J. Larsen, A. Ljungberg and S. Ellerström, 1986: Cytogenetic analysis of structural rearrangements in three varieties of common wheat, *Triticum aestivum*. - Theoretical and Applied Genetics (under trykning).
- Linde-Laursen, Ib., 1985: Cytology and cytogenetics of *Hordeum vulgare* and some allied species using chromosome banding techniques. - Risø Report No. 529, pp. 56 + 14 appendices (doktordisputats).
- Linde-Laursen, Ib. and Roland von Bothmer, 1986: Giemsa C-banded karyotypes of *Hordeum secalinum*, *H. capense* and their interspecific hybrids with *H. vulgare*. - Hereditas 105 (under trykning)
- Linde-Laursen, Ib. and Roland von Bothmer, 1986: Giemsa C-banding in two polyploid, South American *Hordeum* species, *H. tetraploidum* and *H. lechleri*, and their aneuploid hybrids with *H. vulgare*. - Hereditas 105 (under trykning).
- Linde-Laursen, I. and R. von Bothmer, 1986: Preferential loss and gain of specific *Hordeum vulgare* chromosomes in hybrids with three alien species? - In: Proc. EUCARPIA Symp. "Genetic Manipulation in Plant Breeding", Berlin: 179-182.
- Linde-Laursen, I., R. von Bothmer and N. Jacobsen, 1986: Giemsa C-banded karyotypes of *Hordeum* taxa from North America. - Can. J. Genet. Cytol. 29: 42-62.
- Linde-Laursen, Ib., G. Nielsen, and H. B. Johansen, 1986: Distribution of isoenzyme markers at thirty-seven loci in a pedigree of European spring barley. - Hereditas 106 (under trykning)
- Nielsen, G. and H.B. Johansen, 1986: Proposal for the identification of barley varieties based on the genotypes for 2 hordein and 39 isoenzyme loci of 47 reference varieties. - Euphytica 35: 717-728.
- Nielsen, Gunnar and Jørn Hejgaard, 1986: Mapping of isozyme and protein loci in barley. - In: Isozymes: Current Topics in Biological and Medical Research 14 (ed. J.S. Scandalios), Alan R. Liss, Inc., New York (under trykning).

#### Foredrag

- Doll, Hans: Is it possible and worthwhile trying to improve cereal protein quality by genetic engineering. - EEC-Meeting on Cereal Protein. Rothamsted, England, 13.-16. maj.
- Doll, Hans: Characteristics of quality in seeds storing carbohydrates. - Eucarpia congress, Warszawa, 22.-25. juni.
- Giese, Henriette: DNA-replication during endosperm development. - EEC-Meeting on Cereal Protein. Rothamsted, England, 13-16. maj.
- Jensen, Jens: Linkage map of barley chromosome 4. - 5th International Barley Genetics Symposium, Okayama, Japan, 6.-11. oktober.
- Rasmussen, S.K.: The gene of barley protein Z. - Nordisk Forskarsymposium: The molecular analysis of plant genes. København, 13.-14. marts.
- Rasmussen, S.K.: Analysis of cDNA cloning of basic proteins appearing late in grain filling. - EEC Meeting on Cereal Proteins, Rothamsted, England, 13.-16. maj.

#### Posters

- Giese, Henriette: DNA-replication in barley endosperm during grain development. - 17th FEBS Meeting, Berlin (West), 24.-29. august.
- Rasmussen, S.K., A. Montembault, V. Cameron-Mills, A. Brandt: Genes coding for the major endosperm proteins in barley. - Nordforsk-Symposium 1986, Gene Technology in Basic and Applied Research, Nyborg, 27.-30. april.

## CELLE- OG VÆVSKULTUR

### Publikationer

- Buchter-Larsen, A. and C. John Jensen, 1986: Sugar beet (*Beta vulgaris* L.) pollen quality assessment and effect of irradiation as measured by fluorochromatic reaction and in vitro germination. - In: Proc. EUCARPIA Symp. "Genetic Manipulation in Plant Breeding", Berlin: 283-285.
- Eriksen, F.D., P. Olesen and C. John Jensen, 1986: Protoplast formation in cereals - an assessment. - In: Proc. EUCARPIA Symp. "Genetic Manipulation in Plant Breeding", Berlin: 457-460.
- Jensen, C. John, D. Cass, A. Buchter-Larsen, Eva C. Thörn, K. Engell and P. Olesen, 1986: Pollen and ovule cultures of barley to isolate, manipulate and transfer sperm cells in in vitro fertilization. - In: Proc. EUCARPIA Symp. "Genetic Manipulation in Plant Breeding", Berlin: 473-475.
- Jensen, C. John and Eva C. Thörn, 1986: Strategies in high frequency regeneration from diploid and haploid cell and tissue cultures of barley. - In: Proc. EUCARPIA Symp. "Genetic Manipulation in Plant Breeding", Berlin: 477.
- Jensen, C.J., A. Buchter-Larsen, D. Coas, E. Thörn and P. Olesen, 1986: Isolation of sperm cells, egg apparatus and plant regeneration from in vitro fertilized ovaries and ovules of barley. - Proc. VI Int. Congress of Plant Tissue and Cell Culture, Minnesota, August 1986: 157.
- Jensen, C.J. and E. Thörn, 1986: High frequency plant regeneration through embryogenesis in haploid barley cultures. - Proc. VI Int. Congress of Plant Tissue and Cell Culture, Minnesota, August 1986: 122.
- Jørgensen, R.B., C.J. Jensen, B. Andersen and R. von Bothmer, 1986: High capacity of plant regeneration from callus of interspecific hybrids with cultivated barley (*Hordeum vulgare* L.). - Plant Cell, Tissue and Organ Culture 6: 199-207
- Thörn, Eva C. and C. John Jensen, 1986: Chromosomal variation in regenerated plants from hybrid callus from crosses between *Hordeum vulgare* x *H. bulbosum*. - In: Proc. EUCARPIA Symp. "Genetic Manipulation in Plant Breeding", Berlin: 637.

### Foredrag

- Doll, Hans: Vævskulturprogrammet på Risø. - Vævskulturmøde, Karlslunde Strand, 25.-26. marts.
- Eriksen, Folmer D.: Regeneration fra in vitro plantemateriale - undersøgelse af de tidlige faser i embryogenesen. - Vævskulturmøde, Karlslunde Strand, 25.-26. marts.
- Jensen, C. John: Cell culture, differentiation and analysis of embryoformation in barley cultures. - International Meeting on: Cereal Biotechnology, München, Vesttyskland, 2. juni.
- Jensen, C. John: Biotechnology: Barley Cell and Tissue Culture. - 5th International Barley Genetics Symposium, Okayama, Japan, 15. oktober.
- Jensen, C. John: Haploid Barley: Culture and use. - University of Tsukuba, Japan, 18. oktober.
- Jensen, C. John: Cell culture and embryogenesis. - Sendai University, Japan, 19. oktober.
- Jensen, C. John: Hvordan cellebiologi og cellekultur kan bidrage til plante-foredling. - Svalöf 100 års symposium, Sverige, 27. november.
- Jensen, C. John: Haploid barley cell cultures in biotechnology. - International workshop, University of Guelph, Canada, 10. december.
- Jørgensen, Rikke Bagger: Anvendelse af kalluskultur ved overførsel af genetisk materiale til dyrket byg fra vilde bygarter. - Vævskulturmøde, Karlslunde Strand, 25.-26. marts.

Schou, Ole: Biokemisk karakterisering af embryogene versus non-embryogene celler ved hjælp af immunologiske metoder. - Vævskulturmøde, Karlslunde Strand, 25.-26. marts.

#### Poster

Jørgensen, Rikke Bagger: Variation from callus cultures of hybrids with cultivated barley. - I Int. Congress of Plant Tissue and Cell Culture, Minnesota, august 1986.

#### SYGDOMSRESISTENS

##### Publikationer

- Andersen, J.B. and J. Torp, 1986: Quantitative analysis of the early powdery mildew infection stages on resistant barley genotypes. - J. Phytopathology 115: 173-186.
- Beck, Claus, and J. Helms Jørgensen, 1986: Screening of European spring barley varieties for reaction to net blotch. - Nordisk Jordbrugsforskning 68(3): 344.
- Beck, C., 1986: *Pyrenophora teres* på byg, specielt med henblik på resistens. - Risø-I-Rapport 231, 66 pp.
- Doll, Hans and Hans Peter Jensen, 1986: Localization of powdery mildew resistance gene *Ml-ra* on barley chromosome 5. - Hereditas 105: 61-65.
- Jensen, Hans Peter, 1986: Lokalisering af meldugresistensgenet *Ml-ra* på byg-gens kromosom 5. - Nordisk Jordbrugsforskning 68(3): 343.
- Jørgensen, J. Helms, and H.P. Jensen, 1986: The spontaneous chlorophyll mutation frequency in barley. - Hereditas 105: 71-72.
- Jørgensen, J. Helms, 1986: Genetics of *Erysiphe graminis*. - In: Genetics of Pathogenic Fungi, Advances in Plant Pathology 6, Academic Press, London (under trykning).
- Jørgensen, J. Helms, 1986: Three kinds of powdery mildew resistance in barley. - In: "Barley Genetics V", Proc. 5th International Barley Genetics Symposium, Okayama (under trykning).
- Jørgensen, J. Helms, 1986: Designations of barley powdery mildew resistance in European countries. - EPPO Bulletin (under trykning).
- Jørgensen, J. Helms and M.S. Houmøller, 1986: Distribution of powdery mildew resistance and virulence in Denmark. - EPPO Bulletin (under trykning).
- Knudsen, Jens Chr. Nørgaard, 1986: Resistance to barley leaf stripe. - Z. Pflanzenzücht. 96: 161-168.
- Knudsen, Jens Chr. Nørgaard, H.-H. Dalsgaard, and J. Helms Jørgensen, 1986: Field assessment of partial resistance to powdery mildew in spring barley. - Euphytica 35: 233-243.
- Knudsen, J. Chr. Nørgaard, H.-H. Dalsgaard, and K.J. Petersen, 1986: Laboratory selection for partial powdery mildew resistance in barley. - Nordisk Jordbrugsforskning 68(3): 341-342.
- Knudsen, J.C.N., H.-H. Dalsgaard and J. Helms Jørgensen, 1986: Partial resistance to barley powdery mildew. - In: "Barley Genetics V", Proc. 5th International Barley Genetics Symposium, Okayama (under trykning).
- Skou, J.P. (ed.), 1986: Meddelelser fra plantepatologisk nomenklaturudvalg. Nr. 8, 9 pp. (ISSN 0900-5102).
- Skou, J.P., 1986: Biologisk bekæmpelse af meldug (Biological control of powdery mildew). Ugeskrift for Jordbrug 131: 527-530.
- Skou, J.P., 1986: *Tilletiopsis albescens*. Hyperparasite or antagonist on barley powdery mildew. - Nordisk Jordbrugsforskning 68(3): 331-332.
- Skou, J.P. and V. Haahr, 1986: Field screening for resistance to barley net blotch. - Ann. Appl. Biol. (under trykning).
- Skou, J.P. and V. Haahr, 1986: Screening for and heredity of resistance and susceptibility to barley leaf stripe (*Drechslera graminea*). - Risø-Report (under trykning).



Torp, J. and J. Helms Jørgensen, 1986: Modification of barley powdery mildew resistance gene *Ml-a12* by induced mutation. - Canadian Journal of Genetics and Cytology 28: 725-731.

#### Foredrag

Jørgensen, J. Helms: Recent research on barley powdery mildew. - Laboratory of Plant Pathology, Kyoto University, Japan, 15. oktober.

Jørgensen, J. Helms: Three kinds of powdery mildew resistance in barley. - Lehrstuhl für Pflanzenbau und Pflanzenzüchtung, Technische Universität, München, Vesttyskland, 6. november.

Jørgensen, J. Helms: Determination of powdery mildew resistances and resistance genes in spring barley in Denmark. - EEC Workshop on "Integrated control to reduce the damage caused by cereal mildew", Freising-Weihenstephan, 4.-6. november.

#### SYMBIOTISK KVALSTOFBINDING

##### Publikationer

Jensen, E.S., 1986: Symbiotic  $N_2$  fixation in pea and field bean estimated by  $^{15}N$  fertilizer dilution in field experiments with barley as a reference crop. - Plant and Soil 92: 3-13.

Jensen, E.S., 1986: Localization of nitrate reduction in some *Pisum* genotypes. - The Pisum Newsletter 18: 27-29.

Jensen, E.S., 1986: Intercropping field bean with spring wheat. - Vorträge für Pflanzenzüchtung 11: 67-75.

Jensen, E.S., 1986: Hvor meget kvælstof binder bælgeplanterne? - Agrologisk Tidsskrift Marken 8: 21-23.

Jensen, E.S., 1986: Nitrate assimilation and inhibition of nitrogen fixation in pea. - Licentiatbifagsafhandling i plantefysiologi. 46 pp.

Jensen, E.S., 1986: Symbiotic nitrogen fixation and nitrate uptake by the pea crop. - Licentiatafhandling. 45 pp + 4 appendices.

Jensen, E.S., 1986: The influence of rate and time of nitrate supply on nitrogen fixation and yield in pea (*Pisum sativum* L.). - Fertilizer Research 10: 193-202.

Jensen, E.S., 1986: Inoculation of pea by application of *Rhizobium* in the planting furrow. - Plant and Soil (under trykning).

Jensen, E.S., 1986: Variation in nitrate tolerance of symbiotic  $N_2$  fixation by the pea/*Rhizobium* symbiosis. - Zeitschrift für Pflanzenzüchtung (under trykning).

Jensen, E.S., 1986: Seasonal patterns of growth and nitrogen fixation in field-grown pea. - Plant and Soil (under trykning).

Jensen, E.S., 1986: Intercropping faba bean with maize in Denmark. - FABIS Newsletter (under trykning).

Jensen, E.S., L.H. Sørensen and K.C. Engvild, 1986: Danish *Rhizobium leguminosarum* strains nodulating 'Afghanistan' pea (*Pisum sativum*). - Phytol. Plant. 66: 46-48.

Minchin, F.R., M. Ines Minquez, J.E. Sheely, J.F. Witty and L. Skøt, 1986: Relationships between nitrate and oxygen supply in symbiotic nitrogen fixation by white clover. - J. Exp. Bot. 37: 1103-1113.

Skøt, L., P.R. Hirsch and J.F. Witty, 1986: Genetic factors in *Rhizobium* affecting the symbiotic carbon costs of  $N_2$  fixation and test plant biomass production. - J. Appl. Bacteriol., 61: 239-246.

Witty, J.F., F.R. Minchin, L. Skøt and J.E. Sheely, 1986: Nitrogen fixation and oxygen in legume root nodules. - In: Oxford Surveys of Plant Molecular and Cell Biology (ed. B.J. Miflin), Oxford University Press (under trykning).

Witty, J.F., L. Skøt and N.P. Revsbech, 1986: Direct evidence for changes in the resistance of legume root nodules to  $O_2$  diffusion. - J. Exp. Bot. (under trykning).

#### Foredrag

- Haahr, V.: Risø's projekt vedrørende symbiotisk kvælstofbinding. - Statens planteavlsvforsøg, Nyborg Strand, 10. marts.
- Jensen, E.S.: Symbiotisk kvælstofbinding og nitratreduktion hos ært. - Licentiatforelæsning i plantefysiologi, Risø, 13. marts.
- Jensen, E.S.: Måling af symbiotisk  $N_2$  binding hos bælgeplanter. - Seminar på Institut for kulturteknik og planteernæring, KVL, 10. april.
- Jensen, E.S.: Biologisk kvælstofbinding. - Kursus i gradvis omlægning til økologisk jordbrug, Kørehave Landbrugsskole, 30. juni.
- Jensen, E.S.: Intercropping of field bean and spring wheat. - EEC-workshop on *Vicia faba* cultivation, Breeding and Nitrogen Fixation, Göttingen, 16.-19. juli.
- Jensen, E.S.: Kvælstofbinding. - Kursusinstitutionen Tune Landboskole, 15. september.
- Jensen, E.S.: Symbiotisk kvælstofbinding og nitratoptagelse hos ært. - Licentiatforelæsning, KVL, 9. oktober.
- Rosendahl, L.: Effect of glutamine synthetase (GS) on control of nitrogenase activity in *Rhodospseudomonas capsulata*. - Nordisk Forskarkurs om Biological Nitrogen Fixation, Uppsala, 3. juni.
- Rosendahl, L.: *Rhizobium* strain effect on use of photosynthate in pea root nodules. - Nordisk Forskarkurs om Biological Nitrogen Fixation, Uppsala, 5. juni.

#### PLANTEERNERING OG MILJØ

##### Publikationer

- Bertelsen, Finn og Gunnar Gissel-Nielsen, 1986: Afsvovlingsprodukter og miljø. - Ugeskrift for Jordbrug 31: 902-904.
- Christensen, B.T., and L.H. Sørensen, 1986: Nitrogen in particle size fractions of soils incubated for five years with  $^{15}N$ -ammonium and  $^{14}C$ -hemicellulose. - Journal of Soil Science 37: 241-247.
- Gissel-Nielsen, G., 1986: Selenium fertilizers and foliar application. Danish experiments. - Annals of Clinical Research 18: 61-64.
- Gissel-Nielsen, Gunnar, 1986: Mineralstoffer. - Råd & Resultater 5: 12-14.
- Gissel-Nielsen, Gunnar, 1986: Comparison of Selenium Treatments of Crops in the Field. - Biological Trace Element Research 10: 209-213.
- Gissel-Nielsen, Gunnar, 1986: Selen - et populært stof. - Landmands Almanakken 1987: 53-61.
- Gissel-Nielsen, Gunnar, 1987: Mikronæringsstofferne er kommet i søgelyset. - Marken 5 nr. 1: 9-11.
- Jakobsen, I., 1986: Phosphorus inflow into roots of mycorrhizal and non-mycorrhizal peas under field conditions. - In: Physiological and Genetic Aspects of Mycorrhizae (eds. V. Gianinazzi-Pearson and S. Gianinazzi), INRA, Paris: 317-321.
- Jakobsen, I., 1986: Vesicular-arbuscular mycorrhiza in field-grown crops. III. Mycorrhizal infection and rates of phosphorus inflow in pea plants. - New Phytologist 104: 573-581.
- Jakobsen, I., 1986: Effects of VA-mycorrhiza in yield and harvest index of field-grown pea. - Plant and Soil (under trykning).
- Jensen, E.S. og V. Haahr, 1986: Eftervirkning af ærter dyrket til modenhed. - I: Odlingssystem och växtföljder med huvudvitkt på alternativ odling. NJF-seminar, Uppsala 106: 21.1-21.8.

- Jensen, E.S. og V. Haahr, 1986: Eftervirkning af ærter dyrket til modenhed. - Nordisk Jordbrugsforskning (under trykning).
- Sasa, M., G. Zahka and I. Jakobsen, 1986: The effect of pretransplant inoculation with VA mycorrhizal fungi in the subsequent growth of leeks in the field. - Plant and Soil (under trykning).
- Sørensen, L.H., 1987: Organic matter and microbial biomass in a soil incubated in the field for 20 years with <sup>14</sup>C-labelled barley straw. - Soil Biology and Biochemistry (under trykning).

#### Foredrag

- Andersen, Arna J.: Vinterafgrøder og miljø - næringsstofoptagelse og udvaskning. - Seminar arrangeret af Landskontoret for planteavl, Nyborg Strand, 25. september.
- Gissel-Nielsen, Gunnar: Status on environmental research and debate in Denmark. - Plant, Soil and Nutrition Lab., Ithaca, N.Y., 13. august.
- Gissel-Nielsen, Gunnar: Mikronæringsstoffer og spormineralers betydning for afgrødekvaliteten. - Tune Landboskole 27. november.
- Gissel-Nielsen, Gunnar: Tjernobyl: effekt på danske afgrøder. - Nyborg 30. maj.
- Gissel-Nielsen, Gunnar: Kvælstofkredsløbet, uafklarede spørgsmål. - Dansk Selskab for Miljøkemi, København, 8. december.
- Jakobsen, I.: VA-mycorrhiza - betydning for planter vækst. - Kærehave Landbrugsskole, 30. juni.
- Jakobsen, I.: Ecology of mycorrhizal fungi. - 14th International Congress of Microbiology, Manchester, U.K., 12. september.
- Jakobsen, I.: The role of phosphorus and VA mycorrhiza in nitrogen fixation and dry matter production by *Pisum sativum*. - Michigan State University, East Lansing, Michigan, U.S.A., 23. september.
- Jakobsen, I.: Mycorrhizal effects on P inflow and dry matter production in field-grown pea. - USDA, Western Regional Research Center, Albany, California, U.S.A., 15. oktober.
- Jensen, E.S.: Jordens organiske fosforpulje som næringsstofkilde for planter. - Licentiatforelæsning, KVL, 9. oktober.

#### Posters

- Gissel-Nielsen, Gunnar: Fractionation of selenium in barley and rye-grass. - 10th Int. Plant Nutrition Colloquium, 1986, Washington, U.S.A.

### ANDRE PUBLIKATIONER OG FOREDRAG

#### Publikationer

- Andersen, Arna, Vagner Haahr og Jens Sandfær, 1986: Det tidsmæssige forløb af stofproduktion og næringsstofoptagelse i vinter- og vårformer af kornarter. - Statens Planteavlsforsøg. Beretning nr. S 185A: 60 pp.
- Andersen, Arna, Vagner Haahr og Jens Sandfær, 1986: Stofproduktion og næringsstofoptagelse i vår- og vinterformer af kornarter. - Ugeskrift for Jordbrug 131: 791-796.
- Engvild, K.C., 1986: Chlorine-containing natural compounds in higher plants. - Phytochemistry 25: 781-791.
- Jørgensen, R.B., Bothmer, R. von og Jacobsen, N., 1986: Vild byg i bygforædlingen. - Naturens Verden 1: 36-40.
- Skou, J.P., 1986: Notes on habitats, morphology and taxonomy of spore cyst fungi. - IN: Proc. of the 30th International Apicultural Congress, Nagoya, Japan, October 10-16, 1985. Apimondia 30: 260-264.

### Foredrag

Doll, Hans: Hvad rører der sig i dansk landbrug i dag og frem til år 2000 inden for forskning og udvikling? - Kollekolle, 5. marts.

### 5. SEMINARER

- |              |  |
|--------------|--|
| 30. januar   | Birger Lindberg Møller, Landbohøjskolen:<br>Den fotosyntetiske membran   |
| 13. februar  | Roland von Bothmer, SLU, Svalöv, Sverige:<br>Nyt fra Svalöv  |
| 27. februar  | Ole Schou:<br>Introduktion i fremstilling og brug af monoclonale antistoffer   |
| 13. marts    | Erik Steen Jensen:<br>Symbiotisk kvælstofbinding og nitratreduktion hos ært  |
| 17. april    | Ulla Rasmussen, Carlsberg Forskningscenter:<br>Use of immunofluorescence in search for barley mutants<br><br>Steve Ullrich, Washington State University, U.S.A.:<br>Monoclonal antibodies for hordein polypeptides |
| 22. maj      | Anneli Tallberg, Svalöv AB, Sverige:<br>Anvendelse af DNA-teknik til rutinebestemmelse af virus i kartofler  |
| 19. juni     | Wouter Lange, S.V.P., Wageningen, Holland:<br>The application of wild emmer wheat ( <i>Triticum dicoccoides</i> ) in the breeding of common wheat ( <i>T. aestivum</i> )   |
| 7. november  | J.P. Skou:<br>Undersøgelse for og ned arvning af resistens over for byg-stribesyg i en nordisk samling af bygsorter  |
| 18. november | Anders Brandt, Carlsberg Laboratoriet:<br>Genetisk transformation i rug - A. de la Pena's forsøg   |
| 27. november | Kerstin Huss-Danell, Universitetet i Umeå:<br>Kvævefixering hos <i>Frankia</i> symbioser   |
| 30. november | Jens Jensen:<br>Koblingskort for bygkromosom 4.  |
| 4. december  | Rita Wyndaele, Aarhus Universitet:<br>Analyse af differentieringsprocesser i cellekulturer af bælgeplanter   |

## 6. PERSONALE, STIPENDIATER OG STUDERENDE

Afdelingens personale omfattede pr. 31. december 1986 i alt 56 personer inkl. deltidsansatte; personalenormeringen var ved årets udgang på i alt 38 årsværk (16 A- og 22 B-stillinger); 2 licentiatstuderende var aflønnet over Risøs stipendiekonto, og der var ansat 8 A- og 4 B-medarbejdere på eksternt finansierede projekter. I årets løb har 5 laborantelever haft 4 måneders praktik på afdelingen og 7 studerende fra KVL har udført hovedopgave eller dele deraf på afdelingen.

### 6.1. Personale og stipendiater

I den følgende opstilling er medarbejderne placeret i alfabetisk rækkefølge inden for de forskellige grupper, som angiver opgaver og forskningsområder.

#### Ledelse og administration

Andersen, Arna J., afdelingsleder, dr.agro.  
Doll, Hans, souschef, lic.agro.  
Haahr, Vagner, driftsleder, lic.agro.  
Petersen, Lis, overassistent  
Raasø, Vivi, assistent  
Sørensen, Anni, assistent

#### Mærk- og drivhuspersonale

Andersen, Lis Brandt, forsøgsmedhjælper  
Gade, Poul, gartner  
Henriksen, Ebbe, forsøgsformand  
Karlsen, Aage, forsøgsassistent  
Mortensen, Finn, forvalter  
Nielsen, Vagn Aage, gartner  
Pedersen, Jens Ole, forsøgsmedhjælper  
Poulsen, Aksel, forsøgsassistent  
Skovsgaard Christensen, Bent, forsøgsassistent  
Vestesen, Hans, forsøgsassistent

#### Genetik og molekylærbiologi

Andersen, Margit Elm, laboratorietekniker  
Berenstein, Dvora, cand.scient.  
Dyrgaard Jensen, Lone, laboratorietekniker  
Glæse, Henriette, lic.agro.

Ibsen, Elly, laboratorietekniker  
Jensen, Jens, lic.agro.  
Johansen, Hanne Bay, laboratorietekniker  
Linde-Laursen, Ib, dr.agro.  
Lynghøft, Beth, laborant  
Køie, Bertel, lic.techn.  
Nielsen, Gunnar, lic.agro.  
Rasmussen, Søren, civilingeniør  
Sillesen, Anerikke, laboratorietekniker  
Skøt, Leif, lic.scient.

#### **Celle- og vævskultur**

Andersen, Bente, laborant  
Buchter-Larsen, Aksel, erhvervsforsker, cand.agro.  
Eriksen, Folmer D., stud.lic.scient.  
Hansen, Ina, laboratorietekniker  
Jensen, C. John, B.Sc.  
Jørgensen, Rikke Bagger, lic.scient.  
Larsen, Inge Merete, laboratorietekniker  
Petersen, Karen Koefoed, hortonom (fra 1/10)  
Schou, Ole, lic.scient.

#### **Sygdomsresistens i planter**

Djurdjevic, Stanko, teknisk medarbejder  
Jensen, Hans Peter, agronom  
Jørgensen, Jørgen Helms, lic.agro.  
Knudsen, Jens Chr., lic.agro. (til 30/4)  
Lilholt, Ulla, laboratorietekniker  
Skou, Jens Peder, dr.agro.

#### **Symbiotisk kvælstofbinding**

Brink Jensen, Merete, laboratorietekniker  
Engvild, Kjeld, mag.scient.  
Holm-Jensen, Anne Grethe, laboratorietekniker  
Haahr, Vagner, lic.agro.  
Jensen, Erik Steen, lic.agro.  
Larsen, Hanne Egerup, laborant  
Rosendahl, Lis, cand.scient.  
Sandfær, Jens, dr.agro.  
Sillesen, Anerikke, laboratorietekniker  
Thomsen, Jørgen D., ingeniør

#### **Planteernæring og miljø**

Bertelsen, Finn, cand.scient.  
Gissel Nielsen, Gunnar, dr.agro.  
Haahr, Vagner, lic.agro.  
Jakobsen, Iver, lic.scient.  
Jensen, Erik Steen, lic.agro.  
Meltøfte, Liselotte, laboratorietekniker  
Olsen, Anette, laboratorietekniker  
Sørensen, Henning, dr.agro.

## **6.2. Studerende**

Følgende studerende fra KVL har gennemført den eksperimentelle del af deres hovedopgave på afdelingen:

Bech, Claus: "Pyrenophora teres på byg, specielt med henblik på resistens"

Christensen, Elisabeth: "Meldugresistensgener i byg i Nordvesteuropa"

Dalsgaard, Hans Henrik: "Det genetiske grundlag for partiel meldugresistens i byg"

Hansen, Ole: "Betydning af vernalisering af vinterbyg for manifestering af partiel meldugresistens"

Kristensen, Kristian Thorup: "Ressourceudnyttelse i blandingskultur af ært og byg"

Petersen, Klaus: "Undersøgelse af variationen i partiel meldugresistens i sortslistesorter af vårbyg"

Vestergaard, Henrik: "Lokalisering af isoenzym loci hos byg"

## **7. UDVALGTE EMNER**

I det følgende gives en uddybende beskrivelse af 4 udvalgte emner fra afdelingens forskningsarbejde.

### **7.1. Biokemiske metoder til sortsidentifikation**

Gunnar Nielsen

Mange af de plantearter, vi dyrker i land- og havebrug, findes i et stort antal sorter med mere eller mindre forskellige egenskaber. Det er derfor vigtigt for plantedyrkeren, at sorterne kan kendes fra hinanden. Sikre sortskendetegn er også nødvendige for planteforædleren, der stadig arbejder på at frembringe nye og bedre sorter. Yderligere har vi en lov om beskyttelse af forædlerrettigheder, hvori der kræves, at en ny sort skal be-

skrives og kunne identificeres entydigt ved hjælp af bestemte, vedtagne sortskarakterer, før den kan godkendes til optagelse på den officielle sortsliste. Og da en sort ikke må markedsføres, før den er optaget på sortslisten, er denne optagelse vigtig. Som et eksempel på problemets omfang kan nævnes, at der for øjeblikket er flere end 60 bygsorter på den danske sortsliste og ca. 200 på den vesteuropæiske liste. Alle sorter er godkendt, men kun nogle få dominerer dyrkningen.

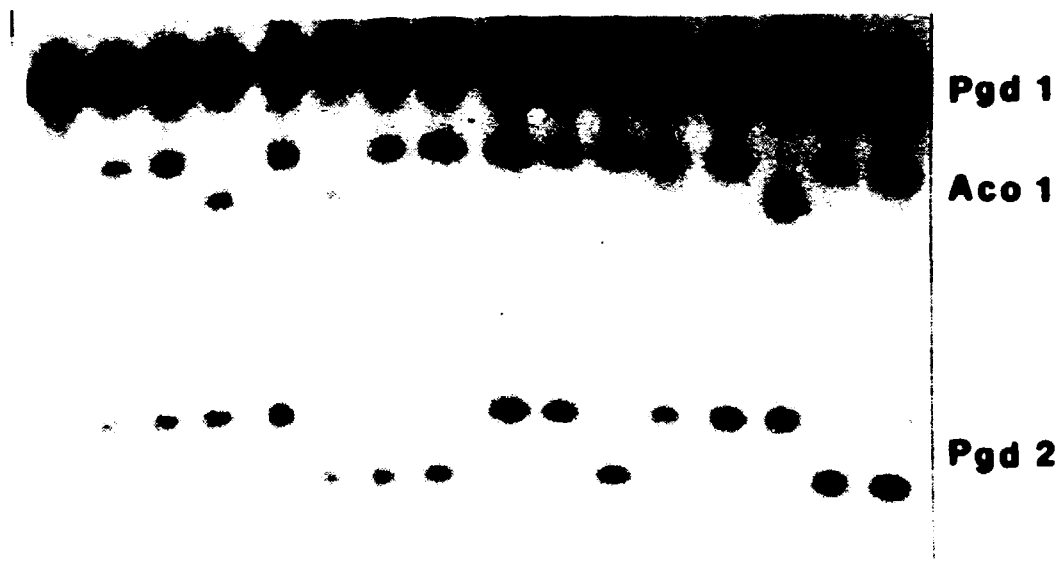
Godkendelse af en sort som en nyhed sker efter en officiel afprøvning. Ved denne kræves som nævnt, at sorten skal kunne kendes fra alle andre kendte sorter ved hjælp af de vedtagne kendetegn. Hidtil har disse med en enkelt undtagelse kun omfattet plantens morfologiske (ydre) egenskaber. Kendetegnene har fx været små forskelle i kernens udformning og forskelle i plantens udseende på alle udviklingstrin. En vanskelighed ved flere af de ydre kendetegn er, at de ikke kun er arveligt betingede. De er også påvirkelige af miljøet, og derfor kan de være noget usikre. Desuden kan det meget store antal sorter inden for nogle plantearter medføre, at en ny og bedre sort ikke kan godkendes, fordi den i beskrivelsen er identisk med en anden tidligere godkendt sort.

#### Biokemiske sortsegenskaber

Alle sortsegenskaber er arveligt betingede, men kun relativt få viser sig som nævnt klart i plantens morfologi. I modsætning til disse er de biokemiske egenskaber skjulte, men meget veldefinerede, og mange af dem kan ved særlige laboratoriemetoder benyttes som gode sortskarakterer. De vigtigste er i øjeblikket isoenzymer og enkelte andre proteiner, fx kernens lagerprotein i kornarterne. I planter som i alle andre levende organismer findes et meget stort antal enzymer til regulering af livsfunktionerne. Varianter af et enzym kaldes isoenzymer. De er opstået ved mutation i det gen, der bestemmer dannelsen af enzymet. Forskellige sorter har ofte forskellige isoenzymer, som kan adskilles ved elektroforese og gøres synlige ved en specifik farvemetode. Andre proteiner kan også have varianter i forskellige sorter. De kan adskilles og farves ved lignende metoder.



Ved elektroforesen anbringes nogle få mikroliter af et blad- eller kerneekstrakt på en gelplade, der som regel består af stivelse eller acrylamid. I hver gel kan placeres prøver fra 20-25 planter. Gelen, der er nogle få millimeter tyk, anbringes i et elektroforeseapparat, og der sættes elektrisk spænding over den i et antal timer. Isoenzymerne vandrer nu i gelen med forskellig hastighed, afhængig af deres elektriske ladning. Efter afsluttet elektroforese tilsættes gelen et farvestof, der kun reagerer med et eller nogle få bestemte enzymer. De enkelte isoenzymer viser sig nu som farvede bånd på gelen. Et eksempel er vist i figur 1.



Figur 1. Isoenzygmønstre fra 16 bygsorter efter elektroforese i stivelsesgel. De to isoenzymsystemer Aco-1 (Aconitase) og Pgd-2 (Phosphogluconat-dehydrogenase) har henholdsvis 3 og 2 varianter. Pgd-1 er ens i disse sorter. En del af sorterne viser ens mønstre.

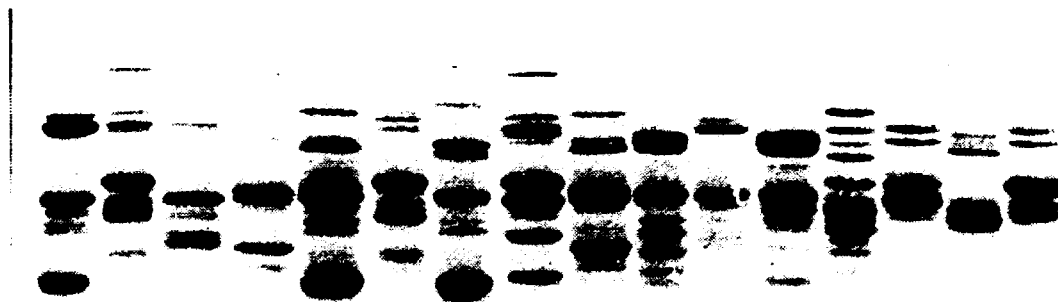
#### Sortskendetegn i byg og rajgræs

Vi har udført en række undersøgelser for at udvikle metoder og teknik og for at belyse, hvilke muligheder der ligger i anvendelsen af biokemiske metoder til sortsidentifikation. Undersøgelserne har omfattet byg og rajgræs. De er principielt forskellige i genetisk henseende, idet byg er en selvbefrugter og rajgræs en fremmedbefrugter. At byg er en selvbefrugter medfø-

rer, at alle planter i en sort i princippet er genetisk ens, og derfor er et bestemt isoenzymmønster karakteristisk for sorten.

**Byg.** Vi har undersøgt de 66 bygsorter, der var opført på den danske sortsliste 1983/84, for 15 enzymesystemer og for kernens lagerprotein (hordein). De enkelte isoenzymsystemer havde hver 2-4 varianter, således at hvert system kunne opdele sortimentet i 2-4 grupper. De få varianter giver mulighed for en let registrering af de enkelte elektroforeseresultater. Der kræves dog ret mange isoenzymsystemer, når et stort antal sorter skal adskilles. Ofte kan mere end ét system aflæses i hver elektroforese, som det ses i eksemplet i figur 1. Ved at kombinere resultaterne fra alle isoenzymsystemer kunne de 66 sorter opdeles i 63 grupper. Den ene gruppe indeholdt 4 meget nært beslægtede sorter, der således ikke kunne adskilles på dette grundlag.

Hordeinmønsteret er mere kompliceret, idet det viser mange bånd, som det fremgår af figur 2. Det giver imidlertid mulighed for opdeling af sorterne i mange grupper efter en enkelt elektroforese. De 66 sorter kunne på grundlag af hordeinmønstre opdeles i 34 grupper. De fire sorter, der ikke kunne adskilles med isoenzymer, kunne heller ikke adskilles med hordein.



Figur 2. Proteinmønstre af bygkernens lagerprotein (hordein) i 16 sorter. Alle mønstre er forskellige.

Hos en selvbefrugtende sort burde alle planter som tidligere nævnt være genetisk ens. Der var dog en del sorter, der indeholdt mere end én type af nogle isoenzymer. Det skyldes, at sortens oprindelige stamplanter har været heterogene, uden at for-

ædleren har kunnet konstatere det. For at undersøge ensartetheden har vi testet 20 planter af hver sort.

**Rajgræs.** Da rajgræs er en fremmedbefrugter, bliver alle planterne i en sort hybrider og derfor mere eller mindre genetisk forskellige. Alle isoenzymtyper kan findes i næsten alle sorter, men med forskellig hyppighed på grund af sorternes forskellige oprindelse. Det er derfor ikke muligt at karakterisere en fremmedbefrugtende sort ved selve isoenzymmønsteret, men det kan gøres ved at sammenligne hyppigheden af de enkelte isoenzymer. Vi har undersøgt et sortiment af diploide og tetraploide (fordoblet antal kromosomer) sorter af både almindelig og italiensk rajgræs. De tetraploide sorter blev undersøgt for et enkelt isoenzymsystem og de diploide for 5 systemer med ca. 100 planter af hver sort. Det store antal planter er nødvendigt, fordi sortskaraktererne bygger på statistiske beregninger. Undersøgelsen har derfor også omfattet udvikling af både elektroforeseteknik og statistisk beregningsmetodik. Resultaterne er ikke så entydige som for selvbefrugteren byg, hvor der ikke indgår statistiske beregninger. Metoden må dog anses for at være brugbar til sortsadskillelse, men der bør formentlig benyttes yderligere et antal enzymsystemer.

### Perspektiver

Jo nærmere man kommer til de gener, der bestemmer sortsforskellene, des bedre må sortskaraktererne i princippet anses for at være, fordi de så påvirkes mindre af andre gener og af miljøfaktorer. Isoenzymerne er direkte genprodukter, der ikke påvirkes af plantens omgivelser. De er ikke særlig vanskelige at arbejde med, men de kræver et laboratorium til rådighed. Den største barriere for deres anvendelse er dog nok af psykologisk art. Der er et spring fra at betragte plantens ydre og til at se på et isoenzymmønster, der stammer fra en dråbe planteekstrakt. Interessen for at anvende biokemiske sortskendetegn er imidlertid stigende, og de vil formentlig blive officielt anerkendt som sådanne inden for en overskuelig fremtid.

Men udviklingen står ikke stille. Det er i dag praktisk muligt at undersøge DNA-strengen, som består af selve generne hægtet sammen i en uhyre lang kæde. Ved at behandle ekstraheret DNA fra en plante med en bestemt type enzymer, restriktionsenzymer, bliver DNA-kæden skåret ud i mange mindre stykker. Et restriktionsenzym klipper DNA-kæden over, hvor det finder en bestemt kombination af kædens elementer. Længden af en del af disse brudstykker vil være forskellig i forskellige sorter, fordi mange af generne er forskellige. Efter elektroforese og en speciel farvning fremkommer et båndmønster svarende til isoenzymmønsteret. Der er grund til at forvente, at man herved kan finde sortsforskelle, som man vanskeligt kan finde med isoenzymer. Metoden kaldes "Restriktions-Fragment-Længde-Polymorfi" (forkortet RFLP).

Vi er ved at undersøge RFLP-metodens anvendelighed til identifikation af bygsorter ved at benytte den på en del af de samme sorter, som tidligere er undersøgt med isoenzymer og hordein. Vi har dog ingen forventninger om, at metoden bliver praktisk brugbar foreløbig, idet analyserne endnu er både meget tidskrævende, komplicerede og dyre. Men antagelig vil den hurtige metodeudvikling inden for DNA-teknik gøre metoden konkurrencedygtig inden for en overskuelig årrække.

## 7.2. Karakterisering af symbiotiske mutanter af *Rhizobium leguminosarum* induceret af transposonet Tn5

Leif Skøt

Den symbiotiske kvælstofbinding hos bælplanter, fx ært, kløver og lucerne, er et resultat af et kompliceret samspil mellem bælplanten og bakterier af slægten *Rhizobium*. Formålet med at studere denne symbiose er at klarlægge, hvilke faktorer hos de to symbionter, der er af afgørende betydning, for at symbiosen fungerer optimalt, dvs. at der bliver bundet mest muligt N til gavn for værtplanten. Viden herom er en forudsætning for at kunne lave forbedrede *Rhizobium*-stammer til podning. Dannelse af rodknolde sker ved, at rod cortexceller begynder at dele sig.

Derfor kan en grundlæggende forståelse af rodknoldudviklingen også bidrage til øget viden om differentiering af planteceller. Symbiosen ligner på visse punkter et angreb af en patogen mikroorganisme, så studiet af symbiotisk kvælstofbinding har også berøringsflader til plantepatologien.

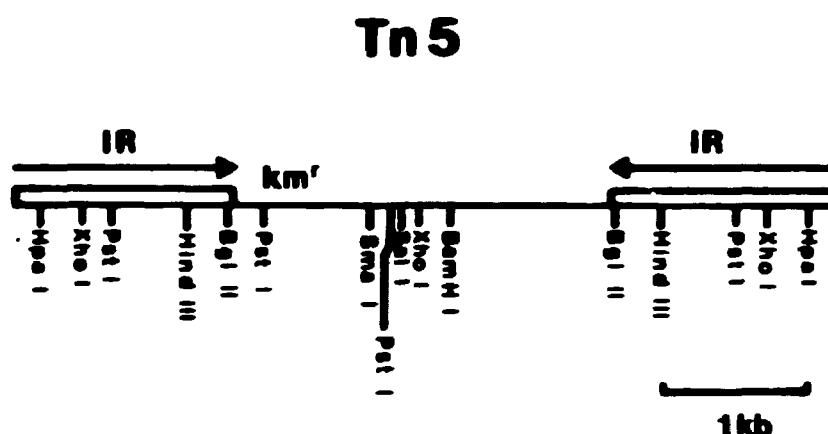
*Rhizobium leguminosarum* biovar *viceae* er en bakterie, som danner rodknolde på ært, hestebønne og vikke. Dens genom består af et cirkulært kromosom, som man antager har omtrent samme størrelse som *Eschericia coli*'s, dvs. ca. 4100 kilobasepar (kb). Dertil kommer et antal på mellem 2 og 7 meget store plasmider (200-700 kb) (plasmid = ringformet DNA-molekyle, der findes i cellen uden for kromosomerne, og som kan lave kopier af sig selv). På et af disse plasmider er der lokaliseret et antal gener, der er essentielle for rodknolddannelse. Nogle af generne er fælles for forskellige *Rhizobium*-arter, mens andre er bestemmende for, hvilken værtplante bakterien kan inficere. Endvidere besidder dette såkaldte sym-plasmid strukturgenerne for nitrorgenaseenzymet, der katalyserer reducere af N til  $\text{NH}_3$ , samt nogle le gener der regulerer N-fikseringen.

Der er imidlertid mere og mere som antyder, at der er mange essentielle gener for symbiosen lokaliseret på kromosomet hos *R. leguminosarum*. For det første har man erfaret, at hvis man overfører sym-plasmidet fra en *R. leguminosarum* biovar *trifolii*-stamme til den nærtbeslægtede bakterie *Agrobacterium tumefaciens*, så er denne bakterie i stand til at danne rodknold-lignende udvækster på kløverplanternes rødder, men ikke til at fikse N. For det andet har man hos *R. meliloti* og *R. leguminosarum* biovar *phaseoli* direkte isoleret kromosomale mutanter, som kan danne rodknolde på deres værtplanter ( $\text{Nod}^+$ ), men som ikke kan fikse N ( $\text{Fix}^-$ ). Disse mutanter er dog ikke blevet undersøgt yderligere.

Derfor er der indledt et projekt med det formål at karakterisere mutanter af *R. leguminosarum*, som har en defekt i kromosomet, så de ikke kan danne en effektiv symbiose med bælgeplanter.

## Opbygning og anvendelse af Tn5

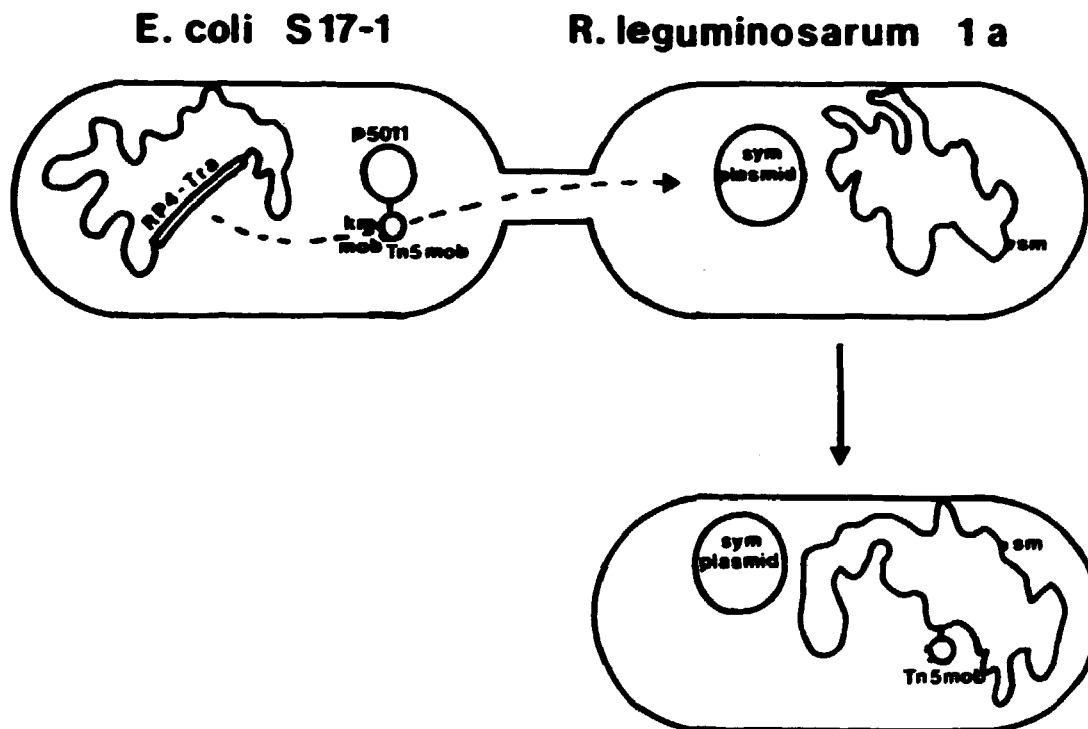
Transposomet Tn5 er blevet benyttet som redskab ved dannelsen af mutanter (figur 1). Et transposom er et stykke DNA, som kan lave en kopi af sig selv og indsætte denne et nyt sted i værtorganismens DNA-molekyle. Det gen, hvori transposomet indsættes, bliver sædvanligvis inaktiveret. Tn5 koder desuden for et enzym, som gør værtorganismen resistent over for antibiotica som kanamycin og neomycin.



Figur 1. Kort over Tn5's vigtigste "restriktionssteder", dvs. korte basesequenser, der genkendes og klippes af restriktionsenzymmer. Tn5 består af to identiske, men modsat rettede, basesequenser på hver 1535 basepar (inverted repeats), som flankerer en sekvens på 2700 basepar, hvor det gen, som bevirker kanamycinresistens ( $km^r$ ) er lokaliseret. (Fra F.J. de Bruin & J.R. Lupski, 1984. *Gene*, 27: 131-149).

Ved produktionen af Tn5-inducerede mutationer hos *R. leguminosarum* blev plasmidet pSUP5011 brugt. Det indeholder en kopi af Tn5, men kan ikke umiddelbart overføres til *Rhizobium*. For at gøre dette muligt har man i Tn5-molekylet indsat et lille stykke DNA fra plasmidet RP4. Dette DNA-stykkets normale rolle i RP4 er at medvirke til, at dette plasmid kan mobiliseres og overføres til bakterier af forskellige slægter, heriblandt *Rhizobium*. Ved at indsætte denne såkaldte mob-sekvens i Tn5 og indføre det resulterende plasmid, pSUP5011, i *E. coli*-stammen S17-1 opnår man at kunne overføre pSUP5011 til *Rhizobium*, fordi S17-1 indeholder en anden DNA-sekvens fra RP4 integreret i sit kromosom. Genprodukterne fra dette RP4-Tra-DNA er nemlig også involveret i plasmidoverførsel. På figur 2 er vist skematisk,

hvordan Tn5mob overføres fra *E. coli* til *Rhizobium* ved krydsning, fordi genprodukterne fra RP4-Tra-DNA vekselvirker med mob-generne i Tn5mob. Plasmidet kan dog ikke opretholdes i *Rhizobium* og går til grunde, men med en frekvens på  $10^{-5}$  indsættes der en kopi af Tn5mob et tilfældigt sted i *Rhizobium*-genomet. Disse tilfælde kan let identificeres via værtorganismens kanamycinresistens.



Figur 2. Mutagenese af *R. leguminosarum* 1a ved hjælp af Tn5mob. Ved krydsning overføres pSUP5011 fra S17-1 til 1a. Plasmidet kan ikke opretholdes i *Rhizobium*, men med en frekvens på ca.  $10^{-5}$  indsættes en kopi af Tn5mob et tilfældigt sted i *Rhizobium*-genomet. Mutanterne selekteres via deres kanamycinresistens. Til selektion mod S17-1 bruges 1a-stammens streptomycinresistens (sm). (Fra R. Simon, 1984. Mol. Gen. Genet. 196: 413-320).

### Selektion af symbiotisk defekte mutanter

Blandt de Tn5mob-inducerede mutanter er det kun et fåtal, hvor symbiotisk essentielle gener er blevet inaktive. To tusinde Tn5mob-inducerede mutanter af *R. leguminosarum* Risø 1a blev undersøgt for deres evne til at danne rodknolde og fikserer N i symbiose med tofrøet vikke (*Vicia hirsuta*). Isolater, der dannede ineffektive (ingen N-fiksering) rodknolde på vikke, blev te-

stet igen på ærteplanter (*Pisum sativum* cv. 'Bodil'). Ved denne fremgangsmåde blev der isoleret 6 mutanter med fænotypen  $\text{Nod}^+, \text{Fix}^-$ , dvs. at de dannede ineffektive rodknolde på ært (figur 3). Blandt de 2000 afprøvede mutanter blev der endvidere identificeret 13 auxotrofe, dvs. mutanter, der ikke var i stand til at vokse på minimalmedium med succinat som kulstofkilde, men som havde normal vækst på et fuldstændigt medium. Blandt de auxotrofe var der to, som kunne vokse på minimalmedium, hvis succinat blev skiftet ud med glucose, og to som krævede henholdsvis leucin og uracil. De resterende auxotrofe mutanternes næringskrav er endnu ikke fastlagt, men én af dem havde fænotypen  $\text{Nod}^-$  og en anden  $\text{Nod}^+, \text{Fix}^-$ .

#### Fysisk karakterisering af Tn5mob mutanter

For at lokalisere, hvor på genomet Tn5mob er indsat, blev de 6  $\text{Nod}^+, \text{Fix}^-$ -mutanter undersøgt yderligere. Ved hjælp af "in situ lysis" gel-elektroforese (Penny Hirsch, personlig meddelelse) blev mutanternes store plasmider adskilt efter størrelse og synliggjort. Plasmidbåndenes DNA overførtes fra agarosegelen til et nitrocellulosefilter, hvorved der på filtret dannedes et aftryk af gelens DNA-båndmønster.

Biotinmærket Tn5mob-DNA blev tilsat filtret. Dette DNA binder sig kun til *Rhizobium*-DNA, hvori der findes Tn5mob-DNA. En farvemethode, der er koblet til de biotinmærkede baserester i Tn5mob-molekylet, fremkalder de bånd, hvortil Tn5mob har bundet sig. Ved hjælp af denne fremgangsmåde blev det påvist, at kun hos én af de 6  $\text{Nod}^+, \text{Fix}^-$ -mutanter var der sket en binding mellem *Rhizobium* plasmid-DNA og biotinmærket Tn5mob-DNA. Dette resultat antyder, at hos 5 af mutanterne er Tn5mob lokaliseret på kromosomet, og kun hos én (LS178) er det indsat i bakteriens sym-plasmid.

Et andet forsøg bekræfter dette resultat. Et derivat af plasmidet RP4 (RP4-4) overførtes til hver af de 6 mutanter. I de tilfælde, hvor Tn5mob er lokaliseret på et plasmid, gøres dette mobiliserbart ved tilstedeværelsen af RP4-4, dvs. det kan overføres til andre *Rhizobium*-stammer. Herefter blev det forsøgt ved



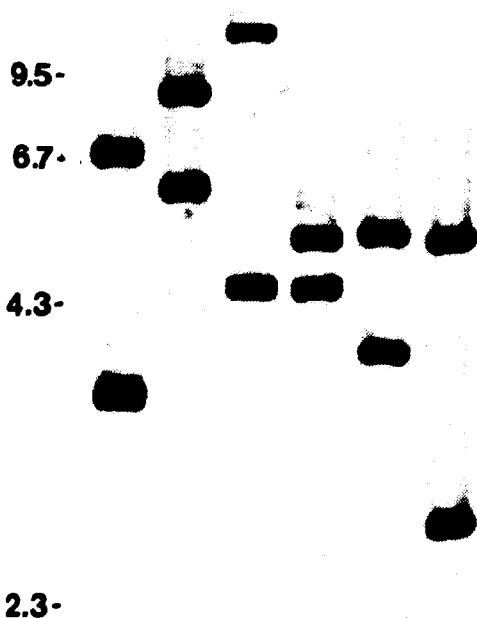
krydsning at overføre kanamycin-resistensen fra hver af de 6 RP4-4-holdige mutanter til en anden *Rhizobium*-stamme. Med mutant LS178 som donor skete der en overførsel af km-resistens med en frekvens på  $2 \times 10^{-6}$ , mens der for de øvrige 5 mutanternes vedkommende ikke kunne registreres overførsel ( $<10^{-8}$ ). Dette indikerer stærkt, at transposomet kun hos LS178 er lokaliseret på et *Rhizobium*-plasmid.



Figur 3. Celler fra det centrale inficerede væv af rodknolde dannet af den effektive *R. leguminosarum*-stamme la (A) og af mutanten LS848 (B). Forstørrelsen er ens på de to billeder. Cellerne fra la-rodknoldene er tæt pakkede med bakterioider. De lyse områder i centrum af nogle af cellerne er vakuoler, de mørke pletter er cellekerner. Hos mutantrodknoldene (B) er cellerne mindre, og langt færre indeholder bakterioider.

Transposomets egenskaber er også blevet udnyttet ved undersøgelsen af, om Tn5mob hos de 6 mutanter er indsat forskellige steder på kromosomet. Totalt DNA blev isoleret fra hver mutant og klippet med forskellige restriktionsenzymmer. Denne behandling efterfulgtes af agarose-gel-elektroforese, hvorved restriktionsfragmenterne adskilles efter størrelse. DNA-fragmenterne blev herefter overført til nitrocellulosefilter og behandlet med biotinmærket Tn5mob-DNA. Da man kender de forskellige restriktionsenzymers genkendelsessteder på Tn5mob (se figur 1), kan man forudsige, hvor mange fragmenter, der vil bindes til biotinmærket Tn5mob-DNA. Resultatet af et forsøg, hvor mutanternes DNA er klippet med enzymet Sall, er vist på figur 4.

23.7-



Figur 4. Binding mellem biotinmærket Tn5mob-DNA og *Rhizobium*-DNA klippet med restriktionsenzymet Sall. Totalt DNA fra Tn5mob-inducerede mutanter klippet med Sall blev efter agarose-gel-elektroforese overført fra gelen til et nitrocellulosefilter og behandlet med biotinmærket Tn5mob-DNA. Ved farvning fremkaldtes de restriktionsfragmenter, som binder sig til Tn5mob-DNA. 1: LS1882; 2: LS1453; 3: LS1366; 4: LS848; 5: LS178; 6: LS140. I den ene side er angivet, hvor langt nogle DNA-molekyler med kendt størrelse har vandret i gelen. Tallene er i kilobasepar. De mindste molekyler har altså vandret længst.

Dette enzym klipper kun ét sted i Tn5 (se figur 1). Derfor vil man forvente at finde to fragmenter, der kan binde sig til Tn5mob-DNA. Antallet af farvede bånd stemmer med forudsigelserne, hvilket fortæller, at der kun er én kopi af Tn5mob i hver mutant, og de forskellige længder på båndene viser, at transposomet er indsat på forskellige restriktions-fragmenter hos de forskellige mutanter.

## Diskussion

Spørgsmålet er nu, hvilke funktioner der er blevet inaktiverede af Tn5mob. Sym-plasmidet indeholder gener, som er involveret i genkendelse af værtplanten, inducering af rodhårskrølning og inducering af celledelinger i rod cortex, altså hovedsageligt de tidlige trin i knolddannelsesprocessen. Sandsynligvis er kromosomalt placerede fix-gener involveret senere i rodknoldens udvikling, fx ved frigørelse af bakterier fra infektionstråden, bakteriedelinger og differentiering af bakterier til bakteroider. Dertil kommer gener, som er involveret i den metabolisme, der er nødvendig for N fikseringen samt i udveksling af signalmolekyler mellem bakteroid og værtplantecelle.

Brugen af Tn5mob i fremstillingen af mutanter kan også lette arbejdet med at klonе det muterede DNA. Til dette formål klippes DNA fra en mutant med et restriktionsenzym, som ikke klipper i Tn5mob-DNA, men kun i det flankerende *Rhizobium*-DNA. Et af de fragmenter, der fremkommer, indeholder Tn5mob-molekylet flankeret af *Rhizobium*-DNA på begge sider. Fragmenterne indsættes i et plasmid og klones i en passende *E. coli*-stamme, som dyrkes på et medium, der indeholder kanamycin. Kun de bakterier, som indeholder Tn5mob-DNA vil vokse. Disse bakterier indeholder foruden Tn5mob også det flankerende *Rhizobium*-DNA.

Denne klon bruges til at identificere det tilsvarende vildtype-DNA fra moderstammen *R. leguminosarum* 'Risø 1a'. Når man har isoleret dette, er vejen banet for en bestemmelse af, hvilket protein-DNA sekvensen koder for og dermed at afgøre, hvilken biokemisk funktion genet har.

## 7.3. Bygstribesygge

Jens Peder Skou

## Indledning

Bygstribesygge, der skyldes angreb af svampen *Drechslera grami-*

nea, er frem for nogen en frøbåret sygdom, da den under naturlige forhold kun spredes med byggerkerne. Så vidt man ved, kan angrebet kun etableres ved, at svampen vokser ind i rodkappen, inden den brydes af kimrødderne. Normalt er angrebet systemisk og latent til stede i størstedelen af vækstperioden, hvilket vil sige, at svampen forekommer i alle dele af planten, uden at det giver sig synlige udtryk. Fra planternes strækning og til modningen udvikles der lange, gullige og brune striber, hvori der efterhånden dannes enorme mængder konidier, der spredes til de sunde planter uden at føre til angreb. Konidierne havner også i blomsterne og på de unge kerner, hvor de ligger i en slags dvale, indtil kernen senere indleder spiringen. Hvis syge planter sætter aks, er de sterile. Ved meget stærke angreb kan sribesygen vise sig allerede på første blad. Sådanne planter vil ofte dø på et tidligt udviklingstrin.

Før i tiden bekæmpedes sygdommen ved bejdsning af såsæden med organiske kviksølvmidler, der var så effektive, at sygdommen på det nærmeste forsvandt. I vore dage bruges andre midler. Efter forbudet mod anvendelse af kviksølvmidlerne dukkede sribesygen op igen, hvilket skabte interesse for at undersøge, om den kunne holdes nede ved resistensforædling.

### Undersøgelserne

Resistens eller modtagelighed hos bygsorterne over for sribesygen kan kun afgøres ved optælling af angrebne planter, fordi resistens eller modtagelighed viser sig som en større eller mindre evne til at undgå (escape) sygdommen. Genetiske undersøgelser er langvarige og vanskelige, idet de enten må udføres på  $F_3$  eller  $F_4$  generationen eller ved hjælp af Bulbosumteknikken med fordoblede monoploider. Desuden kan nedarvningsforholdene med hensyn til sribesygen sandsynliggøres ved sammenligning af procent angrebne planter via stamtavler.

Undersøgelserne har omfattet en afprøvning af 1029 bygsorter og -linier fra de forskellige nordiske samlinger, der nu for en stor dels vedkommende ligger i Nordisk Genbank. Resultaterne

heraf er sat op i stamtavler. Endvidere er nedarvningen af en enkelt resistens analyseret ved hjælp af Bulbosum-teknikken.

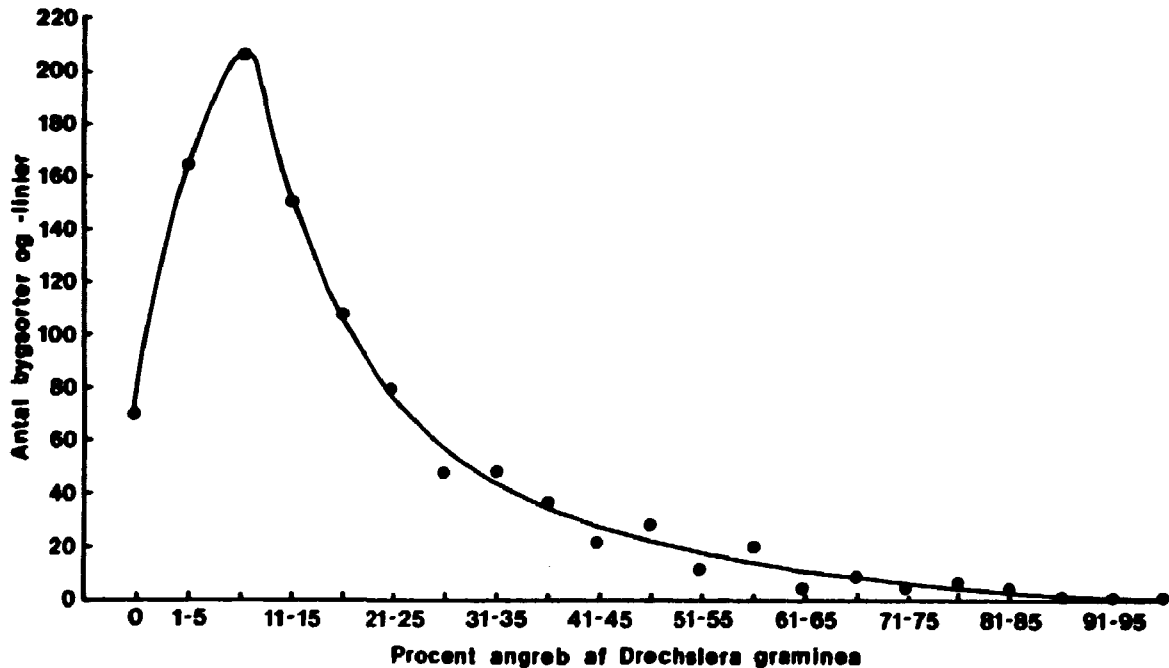
Planterne blev smittet enten ved naturlig inokulation med konidier under højt smittetryk i marken eller ved hjælp af mycelium fra en monosporekultur i petriskåle. I begge tilfælde blev bedømmelserne af angrebene foretaget i drivhus under ensartede betingelser.

### Resultaterne

Resultatet af inokuleringen i marken (figur 1) viser, at et stort antal bygsorter er meget resistente (0-5% angreb) eller resistente (5-10% angreb) over for den pågældende population af sribesygesvampen, og at der forekommer mange grader af modtagelighed. 170 sorter med mindre end 5% angreb efter denne metode blev undersøgt ved inokulation på mycelium af monosporekulturen. Resultaterne heraf viste generelt et stærkere og et lidt andet angrebsmønster end efter inokuleringen i marken, men dog sådan at de mest resistente sorter var fri eller næsten fri for angreb efter begge metoder.

Da hundreder af nordvesteuropæiske bygsorter i stor udstrækning er krydset med hinanden, er det muligt at opstille en række stamtavler, der giver et godt billede af nedarvningen af resistens eller modtagelighed over for sribesygen. Herved viser det sig, at der inden for denne "familie" af bygsorter og -linier kun findes to højresistente kilder med kendt, arvelig baggrund. Man har valgt at give dem betegnelserne "Vada-resistens" og "Freja-resistens". 'Vada' og søstersorten 'Minerva' er afkom efter 'Svalöf Gull' og "*Hordeum laevigatum*", der blev krydset for at indføre sidstnævntes særlige resistens over for meldug i bygdyrkningen, og ved en tilfældighed er højresistens over for sribesygen åbenbart fulgt med. *Laevigatum*-meldugresistens er indført i mange bygsorter, og oprindeligt er det oftest sket via 'Vada', hvorved disse sorter ikke sjældent også er resistente over for sribesyg, selv om undersøgelserne viste, at de to resistenser nedarves uafhængigt af hinanden, idet 14 sorter havde Vada-resistens ud af 34 sorter med

Laevigatum-meldugresistens. Som eksempler kan nævnes sorter som 'Alf', 'Alva', 'Bomi', 'Cerise', 'Georgie', 'Golf', 'Havila', 'Jupiter', 'Koru' og 'Zita'. Sidstnævnte blev krydset med den ekstremt modtagelige 'CI 6944' fra Afghanistan for at analysere nedarvningen af Vada-resistensen ved hjælp af Bulbosum-teknikken. Herved viste det sig, at den er betinget af et enkelt gen, og at den er delvis recessiv.



Figur 1. Fordelingen af 1029 bygprøver efter naturlig inokulering i marken og afprøvning for angrebsniveau i drivhus.

Højresistensen hos 'Freja' kendes kun fra denne sort og fra den finske linie 'Jo 1341' og er åbenbart betinget af to gener, der virker additivt. Det ene, der kan kaldes "Opal-genet", findes i de resistente søskendesorter, 'Opal', 'Maja' og 'Kenia', medens det andet findes i 'Svalöf Seger', der også er resistent. Ved tab af begge resistensgener har det vist sig, at man kan få en meget modtagelig sort.

Ud over de nævnte tilfælde er højresistens blandt de hundreder af undersøgte nordvesteuropæiske bygsorter kun påvist hos den finske landsort 'Piikkio', hos 'Alfa', der sandsynligvis har været en indblanding i 'Kenia', og hos 'Rex II', der er selekteret i 'Rex Abed' på grund af sin resistens over for angreb af

havrenematoden. I tilknytning hertil må 'Tystofte Kors' nævnes. Den er fuldt resistent efter inokulering i marken, men noget angrebet efter inokulering med monosporekulturen. Resistensen hos 'Tystofte Kors' er kendt helt tilbage fra 1914 og er åbenbart den første sort i verden med betegnelsen resistent over for stribesyggen. Den er endvidere fundet resistent i USA og Canada.

Det undersøgte bygmateriale omfattede også en række sorter fra andre verdensdele, og blandt dem var der forholdsvis mange, der viste sig at være højresistente.

'Opal', 'Maja' og 'Kenia', der som nævnt har "Opal-genet" for resistens, har været meget anvendt som krydsningspartnere og spiller derfor en væsentlig rolle for kurvens toppunkt i figur 1, selv om der heri også indgår en hel del sorter af anden oprindelse og mere primitive sorter ("botanisk byg"). Desuden tyder denne del af undersøgelserne på, at 'Maja' og 'Kenia' oprindeligt har været heterogene, idet de også har været ophav til sorter med et angrebsniveau, der ligger ca. 10% højere og derfor må betragtes som modtagelige. En sådan uensartethed er bekræftet af andre undersøgelser.

Krydsning af en resistent med en modtagelig sort har undertiden resulteret i en sort med et intermediært angrebsniveau.

En række modtagelige sorter med angrebsniveauer fra 15% til 80% kommer fra Norge og Finland samt tildels fra Sverige. De nedstammer i vid udstrækning fra 'Asplund', 'Maskin' og 'Svalöf Vega'. Undersøgelserne viser helt klart, at en række forskellige niveauer af modtagelighed virker additivt, når de optræder sammen i sorterne. Således kan angrebsniveauerne hos mere end 50 nordiske sorter forklares ved 5-6 gener med 1-3 gener i hver sort, hvoraf intet gen betinger mere end 40% angreb, og hvorkun 'Maskin' blandt de sorter, der ligger til grund, må antages at have to gener.

Endelig har undersøgelser både her i landet og i andre lande vist, at der forekommer fysiologisk specialisering hos patogenet. Fx viste vore undersøgelser, at isolater fra Finland og

Marokko kunne angribe sorter med den ellers særdeles effektive Vada-resistens. De viser også, at der både findes racespecifik resistens, fx "Vada" m.fl., og partiel resistens. Sidstnævnte er ifølge stamtavleundersøgelserne polygen og additiv.

### Konklusioner

Baggrunden for, at så mange nordvesteuropæiske bygsorter viste sig at have en betydelig grad af resistens, er den, at egenskaberne har været til stede i en række ældre sorter, der hyppigt har været anvendt som krydsningspartnere. Dette resistensniveau kan imidlertid ikke betragtes som tilstrækkeligt til resistensforødling, fordi det alligevel vil nødvendiggøre kemikaliebehandling for at undgå udbyttenedgang.

Vada-resistensen, der har vist sig absolut eller næsten absolut hos os, er den eneste udbredte højresistens i det undersøgte nordvesteuropæiske bygmateriale. Den er betinget af et enkelt gen og er delvis recessiv. Den er kommet ind i den dyrkede byg sammen med Laevigatum-resistensen over for meldug, hvorfor det må forventes, at den er i mange af disse sorter, hvilket let lader sig afgøre, selv om de to resistenser nedarves uafhængigt af hinanden. Ud over værdien af disse sorter i resistensforødlingen, vil de udgøre gode muligheder, hvor man ikke ønsker at anvende plantebeskyttelsesmidler.

Ved krydsning af resistente sorter eller resistente med modtagelige for at bevare eller forbedre ønskede egenskaber lader det sig rimeligt let afgøre, i hvilke linier resistensen er bevaret, forbedret eller tabt. Bruges Bulbosum-teknikken i forødlingen, kan denne afprøvning foretages på et tidligt tidspunkt.

En del bygsorter - hovedsagelig fra andre verdensdele - var højresistente både efter inokulering i marken og efter inokulering på mycelium af en monosporekultur. Da der kan være tale om andre gener end dem, der betinger Vada-resistensen og Freja-resistensen, kan de vise sig værdifulde.



Undersøgelserne viste, at generne kan virke additivt, så resistens kan føre til højere resistens og modtagelighed til større modtagelighed. Desuden har krydsning af resistent og modtagelig undertiden ført til et produkt med et intermediært angrebsniveau.

Da fysiologisk specialisering hos patogenet er en kendsgerning, må der anbefales forsigtighed, når der importeres byg til såsæd fra fjerne egne, da der kan være fare for, at "racer" af patogenet, der kan angribe sorter med den kendte resistens, følger med. Når det ikke er sket hidtil, kan det skyldes de ejendommelige smitteveje og den forholdsvis lave modtagelighed hos en del af de dyrkede sorter.

#### 7.4. Organomineraler

L. Henning Sørensen

*...the union of mineral and organic matter  
to form the organo-mineral complex -  
a synthesis vital to the continuance of life ...*

G.V. JACKS (1963) The Biological Nature of Soil Productivity. - Soils and Fertilizers Vol. 26: 149.

Humus opstår ud fra dødt organisk materiale, især planterester som rødder, blade og strå. Mikroorganismer nedbryder dette materiale og danner herunder nyt mikrobestof; under fortsat omdannelse bliver sådant stof efterhånden til humus. Fra det tidspunkt, da de første planter indvandrer på ny bund, som fx ung moræne efter isafsmeltningen, og til det tidspunkt hvor man har en "færdig" jord med et humusindhold, hvor der er balance mellem opbygning og nedbrydning, går der 50-200 år. I den tempererede del af verden vil humusindholdet i sådan jord ligge mellem 1 og 5%, afhængig af forhold som nedbør, temperatur, undergrundens beskaffenhed samt terrænets form.

Det er ikke muligt at undersøge enkelthederne ved det organiske stofs omsætning i en sådan "færdig" jord blot ved at tilsætte almindeligt organisk materiale og lade det nedbryde. De foran-

dringer, der fremkommer som følge af tilsætningen, er små i forhold til den mængde stof (humus), der findes i forvejen, og som er under konstant nedbrydning. Den  $\text{CO}_2$ , der strømmer ud fra jorden, hidrører fra såvel "gammelt" som "nyt" stof. Isotopmærket plantemateriale giver i denne situation store muligheder for at undersøge omsætningen.

Omkring 1960 byggede man på Risø et vækstkammer til fremstilling af plantemateriale "mærket" med den radioaktive isotop kulstof-14 ( $^{14}\text{C}$ ), med henblik på undersøgelser over det organiske stofs omsætning i jorden. Kulstof-14 er velegnet til sådanne undersøgelser: dens stråling er så svag, at skadevirkninger er meget begrænsede, og dens halveringstid så lang (5500 år), at den kan anvendes i meget langvarige undersøgelser. Isotopmærkningen medfører, at man kan følge en enkelt tilførsel af plantemateriale under dets omsætning i jorden, hvor meget der forsvinder som  $\text{CO}_2$ , hvor meget der indbygges i forskellige fraktioner af humus, og hvor længe det bliver der.

Som nævnt ovenfor er undergrundens beskaffenhed af betydning for humusindholdets størrelse, og lerindholdet er i denne sammenhæng en af de vigtigste faktorer. Forholdet mellem humus og ler har været et hovedemne i undersøgelserne.

### Ler og lermineraller

Ler er i jordbundsmæssig henseende den fraktion af partikler, hvis diameter er mindre end  $2\ \mu$ . En del af denne fraktion består af partikler af såkaldte lermineraller, men også partikler bestående af kvarts, feldspat og jernilte kan indgå i lerfraktionen. Lermineraller er opstået ved forvitring og omdannelser af silikatmineraller, især glimmer og feldspat. Afhængig af temperatur, fugtighedsforhold, surhedsgrad m.v. på forvittringsstedet opstår der forskellige lermineraller, som fx montmorillonit, illit og kaolinit. Visse steder findes de rene lermineraller i stor mængde og udnyttes i minedrift.

Lermineraller er af krystallinsk natur, og betragtet i mikroskop viser partiklerne sig at være plane flager med uregelmæssige

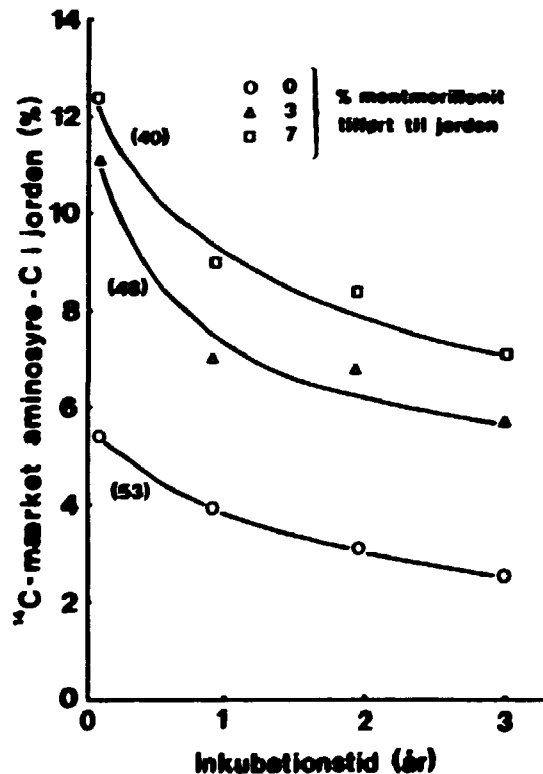
kanter. De er opbygget af lag (elementarlag) stablet oven på hinanden og sammenholdt af relativt svage elektriske (elektrostatiske) kræfter. Denne struktur medfører, at lermineraller spalter ud i tynde flager. De enkelte elementarlag har derimod en fast krystallinsk opbygning: plane krystalgitre opbygget af silicium og ilt i tetraederformation veksler med og er fast forbundet med plane krystalgitre opbygget af aluminium, ilt og hydroxyl i oktaederformation.

I lermineralet kaolinit er elementarlagene "tolagede", dvs. de består af et siliciumlag og et aluminiumlag; i illit og montmorillonit er elementarlagene "trelagede" på den måde, at et aluminiumlag er placeret mellem to siliciumlag. I visse lermineraller er de kræfter, hvormed elementarlagene er sammenholdt, så svage, at ioner og molekyler, fx vandmolekyler, kan trænge ind mellem lagene og skubbe disse noget fra hinanden. Dette er årsagen til den såkaldte kvældning, som er karakteristisk for nogle lermineraller fx montmorillonit. Inde i elementarlagenes krystalgitre kan siliciumatomer eller aluminiumatomer være ombyttet med andre atomer med lavere valens, fx magnesium, uden at det iøvrigt ødelægger krystalstrukturen. Herved opstår der et overskud af negative valenskræfter inde i krystallen; disse kompenseres af kationer, fx kaliumioner, som placerer sig på ydersiden af partiklerne og mellem elementarlagene. Disse ioner kan fortrænges af andre ioner ved såkaldt "kationombytning", en egenskab som er af stor betydning for jord som medium for plantedyrkning. Placeret på lerpartiklerne i ombyttelig form er næringsioner beskyttet mod udvaskning, men er tilgængelige for planterne.

Store organiske molekyler som fx peptider og proteiner kan også fastholdes af lerpartiklerne, dels ved at de trænger ind mellem elementarlagene, dels ved at de fastholdes på lerpartiklernes ydersider. Polyvalente metalioner kan her optræde som bindeled mellem negativt ladede organiske molekyler, og de ligeledes negativt ladede lerpartikler. Dette er baggrunden for dannelsen af de såkaldte **organomineraler**, som har stor betydning for dannelsen af stabile aggregater i jorden, de såkaldte "krummer"; og dermed for den jordbundsform, som vi betegner som "muld".

### Ler beskytter nydannet mikrobefstof

Figur 1 viser nogle resultater fra et forsøg, hvor  $^{14}\text{C}$ -mærket hemicellulose blev nedbrudt og omsat i en sandjord beriget med henholdsvis 0, 3 og 7% af lermineralet montmorillonit. Kurverne viser, hvor meget af det tilsatte, mærkede kulstof, der på analysetidspunktet fandtes i aminosyrer i jorden. Hemicellulosen var fremstillet ud fra  $^{14}\text{C}$ -mærket bygstrå, og indeholdt kun ubetydelige mængder aminosyrer. Når man alligevel finder store mængder mærket kulstof i aminosyrer i jorden, skyldes dette, at mikroorganismerne har syntetiseret dem ud fra det kulstof, som fandtes i hemicellulosen, idet kulhydratet hemicellulose er meget let tilgængeligt for mikroorganismer. Mængden af mærket aminosyre-C er således et mål for den mængde mikrobefstof, der er dannet, og som refterer i jorden, hvad enten aminosyrerne forekom i fri tilstand eller indbygget i peptider og protein.



Figur 1. Betydningen af lermineralet montmorillonit for "opsparing" af mikrobefstof dannet under nedbrydning af hemicellulose i jorden. Hemicellulose blev tilsat i kulstof- $^{14}$  mærket form; mængden af mærket kulstof i aminosyreform er et mål for mængden af mikrobefstof. Procenttal: af tilført mærket kulstof; tal i parenteser angiver % mærket kulstof udskilt som  $\text{CO}_2$  efter 30 dages inkubation (L.H. Sørensen, Soil Science 114: 5-11, 1972).

Efter en måneds inkubation (20°C) fandtes 11-12% mærket kulstof i aminosyrer, hvor jorden var beriget med montmorillonit, mod 4% i jord, som ikke var beriget.

Det lave indhold i sidstnævnte jord skyldes ikke en lavere biologisk aktivitet; tværtimod. Tallene i parentes angiver den mængde af det mærkede kulstof, der efter 1 måneds inkubation var udskilt fra jorden i form af  $\text{CO}_2$ : 53% fra jord uden montmorillonit mod 48 og 40% fra jord beriget med henholdsvis 3 og 7% montmorillonit. Det tilsatte lermineral har altså ingen indflydelse på nedbrydningshastigheden af det tilsatte substrat (hemicellulosen). Det er det nydannede mikrobestof, som lerminerallerne beskytter.

Hvis koncentrationen af "aktive" lerpartikler i jorden er stor, har nydannet materiale som fx aminosyrer, peptider og protein mulighed for hurtigt at komme i kontakt med sådanne partikler. Sådant materiale kan være udskilt fra levende celler, og det kan være frigjort fra døde celler.

De organiske molekyler adsorberes til overfladen af lerpartiklerne, muligvis diffunderer de ind mellem lerpartiklernes elementarlag. Herved dannes organomineralkomplekser, hvor det organiske materiale, som ellers er let tilgængeligt for mikrobiel nedbrydning, opnår en vis grad af beskyttelse. Det organiske materiale kan endvidere medvirke til dannelse af mikroaggregater, derved at de "klistrer" sand og lerpartikler sammen. Inde i sådanne aggregater er det organiske materiale ligeledes beskyttet mod mikrobiel nedbrydning, fordi mikroorganismerne vanskeligt kan trænge ind i disse.

Dannelsen af sådanne organomineralkomplekser medfører, at der i lerrige jorder "opsøres" en del af det materiale, som bliver produceret lige efter tilførslen af let nedbrydeligt, energirigt materiale, fx hemicellulose, som tilfældet var i det her omtalte forsøg. I lerrfattige jorde dannes ingen eller få organomineralkomplekser, og en stor del af det nydannede mikrobestof, fx cytoplasmamateriale, nedbrydes derfor hurtigt. Det, som bli-

ver tilbage, er stof, der er beskyttet mod øjeblikkelig nedbrydning på grund af dets kemisk uregelmæssige struktur, som fx materiale hidrørende fra svampenes cellevægge. Beskyttelsen, hvad enten den skyldes den ene eller den anden mekanisme, er dog ikke 100%. Derfor viser kurverne i figur 1 en stadigt aftagende mængde mærket aminosyre-C. Det er karakteristisk, at efter et års inkubation forløber nedbrydningen med samme fart i alle tre jorder uanset lerindhold, så forholdet mellem indholdet af mærket aminosyre-C i jordene er omtrent det samme efter 3 års inkubation som efter 1 måned. Under hele forløbet er der 2 til 3 gange mere i de lerberigede jorder end i den lerfattige.

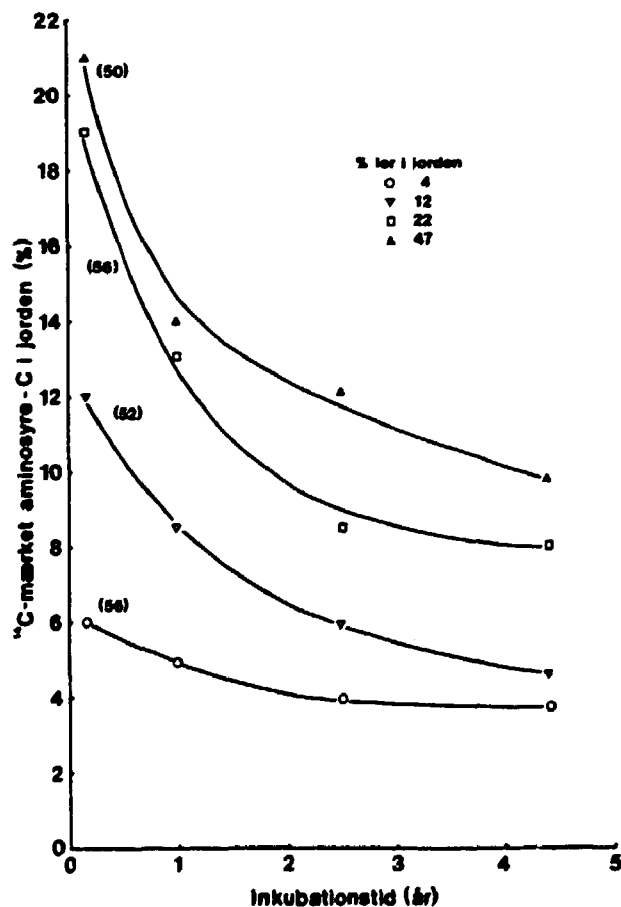
#### Har alle lermineraller stabiliserende virkning?

De forsøg, der er omtalt ovenfor, blev udført med lermineralet montmorillonit. Lignende forsøg blev også udført med lerminerallerne kaolinit og illit. Kaolinit havde ingen eller meget ringe virkning, hvorimod illit havde en virkning, som var ca. det halve af montmorillonits. Denne forskel kan forklares ud fra lerminerallerne fysiske egenskaber. Montmorillonit er stærkt kvældende, dvs. elementarlagene sammenholdes af relativt svage kræfter. Endvidere er kationombytningskapaciteten stor; komplekser dannes derfor let med organiske molekyler, dels ved at de diffunderer ind mellem elementarlagene, dels ved at de adsorberes til overfladen af partiklerne. Illit er ikke kvældende, men har relativt stor kationombytningskapacitet, kaolinit er hverken kvældende eller har nævneværdig kationombytningskapacitet. Sidstnævnte danner derfor ingen eller meget få komplekser med organiske molekyler, hvorimod illit danner nogle komplekser men færre end montmorillonit.

#### Organomineraldannelse i naturlige jorder

De lermineraller, der blev anvendt i ovennævnte forsøg, stammer fra USA. Lerfraktionen i danske jorde består i reglen af en blanding af forskellige lermineraller, heriblandt montmorillonit, illit og kaolinit samt korn af forskellige mineraler som fx kvarts og feldspat.

Undersøgelser over organomineraldannelse blev udført med en række danske jorde med et lerindhold, der varierede fra 4 til 47%. Resultaterne var overensstemmende med resultaterne fra forsøgene med rene lermineraller. Når lerindholdet øgedes fra 4% til henholdsvis 12 og 22%, betød det en fordobling og en tredobling af jordenes indhold af mærket aminosyre-C. I sammenligning hermed havde en forøgelse fra 22 til 47% en relativt lille virkning (figur 2). I naturlige jorder skal der større lerkoncentrationer til for at opnå en vis virkning end med rene lermineraller. Årsagen er formentlig, at kun en mindre del af de naturlige lerfraktioner udgøres af "aktive" lermineraller.



Figur 2. Det naturlige lerindholds betydning for "opsparing" af mikrobetof dannet under nedbrydning af cellulose i jordene. Cellulosen blev tilsat i kulstof-14 mærket form; mængden af mærket kulstof i aminosyreform er et mål for mængden af mikrobetof. Procenttal: af tilført mærket kulstof; tal i parenteser angiver % mærket kulstof udskilt som  $\text{CO}_2$  efter 30 dages inkubation (L.H. Sørensen, Soil Biology and Biochemistry 13: 313-321, 1981).

Både forsøgene med rene lerminerale og med naturlige jorder viser, at ler virker "opsparende" på mikrobielle produkter, som dannes i store mængder i de første uger efter tilførslen af let tilgængeligt, energirigt materiale, hvor den biologiske aktivitet er stor. Efter ca. 1 års inkubation forløber nedbrydningen med omtrent samme hastighed i lerrige jorder som i lerrige. Under denne fase af nedbrydningen dannes der også nyt materiale, men nu i så små mængder, at tilstedeværelsen af ler eller ikke ler har så ringe effekt, at den er vanskelig at erkende, fordi forsøgsusikkerheden er større end lerets "opsparingsvirkning".

#### Organomineraler pedologisk set

Foruden protein og peptider producerer jordens mikroorganismer mange andre stoffer, som bidrager til dannelsen af organomineraler, fx polysakkarider. Dannelsen af organomineraler er det væsentligste i den proces, hvorved jordskorpens øverste strukturløse lag (som fx den unge moræne før planternes indvandring) gradvis omdannes til et lag med en særegen struktur: jord. De "krummer", der er så særegne for den jordtype, vi betegner "muld", består således for en stor del af organomineraler. Uden et vist indhold af organomineraler er det ikke muligt på "stiv ler" at opnå et godt "såbed". Det organiske stof reducerer lerets tendens til at "klumpe" ved udtørring og til at "flyde" under meget fugtige forhold.

Organomineraler dannet ud fra protein bidrager til at give jorden en for dyrkning god struktur, men har desuden en vigtig funktion som kvælstofreservoir. Omkring halvdelen af en lerrjords organisk bundne kvælstof findes i organomineraler.



<b>Title and author(s)</b>  The Agricultural Research Department Annual Report 1986 (in Danish)		<b>Date</b> January 1987		
		<b>Department or group</b> Agricultural Research Department		
		<b>Groups own registration number(s)</b>  		
		<b>Project/contract no.</b>  		
<b>Pages</b> 56 <b>Tables</b> <b>Illustrations</b> 10 <b>References</b>	<b>ISBN</b> 87-550-1297-3			
<b>Abstract (Max. 2000 char)</b>  <p>The annual report begins with a general review of the research work of the department. The activities of the year are described in 5 short project reports and in the lists of publications and of lectures and seminars. Further, the report includes 4 review articles on selected subjects related to the work on the department, and a list of the staff and students of the year.</p>				
<b>Descriptors - INIS</b>  AGRICULTURE; BIBLIOGRAPHIES; PLANT BREEDING; PLANT GROWTH; RESEARCH PROGRAMS; RISOE NATIONAL LABORATORY				
<small>Available on request from Risø Library, Risø National Laboratory, (Risø Bibliotek, Forskningscenter Risø),  P.O. Box 49, DK-4000 Roskilde, Denmark.  Telephone 02 37 12 12, ext. 2202. Telex: 43116, Telefax: 02 36 06 09</small>				